DIE NATURWISSENSCHAFTEN

BEGRÜNDET VON A. BERLINER UND C. THESING

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON
ERICH v. HOLST

HERAUSGEGEBEN VON
ERNST LAMLA

BEIRAT:
J. BARTELS · E. BEDERKE · H. BROCKMANN · P. TEN BRUGGENCATE · A. BUTENANDT · C. W. CORRENS
H. J. DEUTICKE · R. GRAMMEL · O. HAHN · R. HARDER · M. HARTMANN · W. HEISENBERG · A. KÜHN
H. MARTIUS · R. W. POHL · G.-M. SCHWAB · R. THAUER · W. WEIDEL

ORGAN DER MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN
ORGAN DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER NATURFORSCHER UND ÄRZTE

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

48. JAHRGANG **HEFT 17** (ERSTES SEPTEMBERHEFT) **1961**

INHALT

AUFSÄTZE Seite

Methämalbumin als Maßstab für biologisch aktives Hämin. Von J. JENSEN 561

KURZE ORIGINALMITTEILUNGEN

Physik

Ein einfaches Interferenzmikroskop für Auflicht. Von G. SCHULZ 565

Optimalbedingungen beim Bandwalzen unter Berücksichtigung der Bandelastizität. Von A. TROOST 565

Zwei Phänomene der Ausbreitung von Quecksilber auf Goldoberflächen. Von TH. HEUMANN und K. FORCH 566

Absorbierte Betastrahlendosen in Polymetacrylsäuremethylester und Polyvinylchlorid. Von G. BRUNNER und E. SCHÖNBERG 566

Geologie

Über Diapirismus und Alttertiär in Nordspanien. Von H.-D. KIND 567

Physikalische Chemie Seite

On the Infrared Spectrum of cis-Stilbene. Von K. LUNDE und L. ZECHMEISTER 568

Infrarotspektroskopischer Nachweis des Arsonium-Ions. Von A. HEINEMANN 568

Spectrophotometric Studies on Kinetics of Decomposition of Brilliant Green in Acid Medium. Von S. S. KATIYAR . . 568

Chemie

Über die strahlungschemische Oxydation der Schwefligen Säure. Von R. SCHRADER und S. SCHÖNHERR 569

Neue Möglichkeiten der kolorimetrischen Bestimmung von dreiwertigem Chrom. Von M. MALÁT 569

Dünnschichtchromatographische Schnellanalyse bei enzymatischen Steroid-Umsetzungen. Von H. METZ 569

Über Diacetylen-Verbindungen der aromatisch substituierten Elemente Ge, Sn, Pb und Sb. Von H. HARTMANN, E. DIETZ, K. KOMORNICZYK und W. REISS 570

(Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses auf Seite 2)

Röntgen-Feinstrukturuntersuchungen und Röntgen-Spektralanalyse mit

Müller-Röntgenapparaten
Philips Diffraktometer
und Vakuum-Spektrograph

C.H.F. MÜLLER GMBH
HAMBURG

1 Z 5113 D

DIE NATURWISSENSCHAFTEN

Begründet 1913 von *A. Berliner* und *C. Thesing*. 1934/35 herausgegeben von *H. Matthée*, 1936—1944 herausgegeben von *F. Süffert*, 1945—1949 herausgegeben von *A. Eucken*.

Beilage: „Mitteilungen der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte".

Bildet die Fortsetzung der „Naturwissenschaftlichen Rundschau", begründet 1886 und bis 1912 (Jahrgang 27) herausgegeben von *J. Bernstein, V. Meyer, B. Schwalbe, W. Sklareh* u. a. Braunschweig, F. Vieweg & Sohn.

Organ der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte und Organ der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften (bis 1948 Organ der Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft).

Die **„Naturwissenschaften"** erscheinen zweimal monatlich. Bestellungen nimmt jede Buchhandlung und jedes Postamt entgegen. Preis vierteljährlich 15.— DM, für das einzelne Heft 3.— DM, zuzüglich Postgebühren. Für Mitglieder der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte und Studierende der Naturwissenschaften ermäßigt sich der Bezugspreis auf vierteljährlich 12.— DM zuzüglich Zustellgebühren. Lieferung läuft weiter, wenn nicht vier Wochen vor Quartalschluß abbestellt wird. Der Bezugspreis ist im voraus zahlbar.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet. Mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der photomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beiträge den Autorenverbänden zufließen.*

Sonderdrucke: Den Verfassern von Originalbeiträgen und Kurzen Originalmitteilungen stehen 75 Exemplare kostenfrei zur Verfügung.

Anschrift der Redaktion:
(20b) Göttingen, Jennerstr. 21, Tel. 59717

Anzeigen werden von der Anzeigenabteilung des Verlages (Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301, Fernschreibnummer 01-83319) angenommen. Die Preise wolle man unter Angabe der Größe und des Platzes erfragen.

Springer-Verlag
Berlin · Göttingen · Heidelberg

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Redaktionelle Hinweise

II. Spezielle Hinweise

Alle Sendungen und Zuschriften sind zu richten an:

Redaktion der Naturwissenschaften,
(20b) Göttingen, Jennerstr. 21, Tel. 59717.

In sämtlichen Fällen erhalten die Autoren eine Bestätigung über das Eintreffen von Manuskripten sowie über deren Annahme oder Ablehnung. In den Aufsätzen sind seltene und nur einem kleinen Leserkreis verständliche Fachausdrücke nach Möglichkeit zu vermeiden oder in einer Fußnote kurz zu erläutern. Literaturzitate sind fortlaufend zu numerieren; die angeführten Arbeiten werden dann in einem Literaturverzeichnis am Schluß der Arbeit zusammengestellt. Bei Erläuterungen des Textes durch Figuren ist überflüssiger Aufwand zu vermeiden. Figurenvorlagen für Strichätzungen sind so sorgfältig herzustellen, daß nach ihnen ohne weitere Rückfragen Reinzeichnungen angefertigt werden können. Diese werden zur Zeitersparnis den Autoren im allgemeinen nicht vorgelegt, sondern seitens der Redaktion kontrolliert.

Fotografische Abbildungen (Autotypien) können gebracht werden, soweit sachlich erforderlich. In vielen Fällen läßt sich jedoch das Wesentliche durch eine (leichter reproduzierbare) Zeichnung ebensogut zeigen.

Korrekturen

Die Autoren der Aufsätze, Berichte und Buchbesprechungen erhalten eine Fahnenkorrektur, deren umgehende Erledigung und Rücksendung erbeten wird.

Bei den KOM wird zur Beschleunigung des Erscheinens die Korrektur von Text und Abbildung von der Redaktion besorgt, soweit nicht der Autor bei Einsendung des Manuskriptes ausdrücklich den Wunsch äußert, diese Arbeit selbst vorzunehmen. Bei KOM ohne Figuren soll hierdurch das Erscheinen innerhalb 4 Wochen nach Eingang bei der Redaktion ermöglicht werden.

Besprechungsexemplare

Es wird gebeten, von der unverlangten Zusendung von Besprechungsexemplaren abzusehen und zunächst eine Anfrage an die Redaktion zu richten, die gegebenenfalls dann ein Exemplar anfordern wird. Für die Rückgabe unverlangter Besprechungsexemplare kann keinerlei Gewähr übernommen werden.

Seite

Zur Konstitution des β- und γ-Rhodomycinons. Von H. Brockmann und J. Niemeyer . . . 570
The Acidic Dissociation Constants of Mandelic Acid. Von B. Csiszár, M. Halmos und M. T. Beck . . . 571
Eine Grenztemperatur beim strahlenchemisch-thermischen Kracken von Paraffin. Von G. O. Schenck, G. Földiák und W. Meder . . . 571

Biochemie

Zur Heterogenität von Enzymen. II: Reindarstellung von zwei Individuen der Malicodehydrogenase (MDH) aus Kartoffelknollen. Von H. Boser und G. Pawelke . . . 572
The Role of Endotoxin in Autoimmune Processes. Von T. G. Kovács . . . 572
Wirkung eines Hemmstoffes der Lebermikrosomenenzyme auf die oxydative Umwandlung von Corticosteron. Von H. Herken und E. Seeber . . . 573
A Modified Procedure for the Purification of Fibrinogen. Von H. R. Cama, S. A. Kumar und G. J. S. Rao . . . 574
Über die photooxydative Inaktivierung von Carboanhydratase (CAH) aus Rindererythrocyten. Von M. Liefländer . . . 574
Über die Strahlenempfindlichkeit von Zellkern-Proteinen. Von H. Ernst . . . 575

Allgemeine Physiologie, Medizin

The Action of β-Indolacetic Acid (IAA) on Animal Cell Mitotic Activity. Von L. Leahu, F. Gyergyay, E. M. Gyergyay und Cs. Hadnagy . . . 575
Die Wirkung lebender und abgetöteter Hefe auf Tumoren bei Mäusen. Von W. Jöchle . . . 576
Der therapeutische Einfluß der Splenektomie auf den Strahlenschaden bei Ratten. Von H.-J. Melching, O. Messerschmidt und K. Shibata . . . 576

Botanik und Zoologie

Hemmende Wirkung von TRIS-Puffer auf die Hill-Reaktion in isolierten Chloroplasten. Von G. Jacobi . . . 577
Über die Hemmung einzelner Blattanlagen an Caryphyllaceen-Sämlingen durch Phenylborsäure. Von B. Haccius und D. Massfeller . . . 577
Über den Nukleinsäuregehalt gibberellinsäurebehandelter Tomatenpflanzen. Von H. Altmann und O. Kiermayer . . . 578
Mutationen mit embryonaler Manifestation bei *Arabidopsis thaliana*. Von A. Müller . . . 579
Absorption of Glucose and Fructose in the Gut of *Oxycarenus hyalinipennis* (Costa) (Heteroptera; Lygaeidae). Von P. Bhatnagar und K. N. Saxena . . . 579
Die Wirkung von β-Mercaptoäthanol auf junge Embryonen der weißen Ratte. Von M. Müller und N. Skreb . . . 580
Über die Netzbeschwerung bei der Kreuzspinne Aranea diadema L. Von M. E. Lemppenau . . . 580
Canthaxanthin in Vogelfedern. Von O. Völker . . . 581

Zytologie

Desoxyribonuclease-Wirkung in der intakten Zelle. Von G. Kiefer und R. K. Zahn . . . 581
Radiation Effects on the Uptake of Radioactive Iron (Fe^{59}) by Rat Bone Marrow Megakaryocytes in Vivo. Von S. K. Brahma, A. Bose und S. Bose . . . 582
Autoradiographische Untersuchungen mit H^3-Cytidin über die RNS-Synthese im Nukleolus und Kern und die Migration der RNS zum Cytoplasma während des Funktionsformwechsels im exokrinen Pankreas. Von E. Stöcker, M. Maurer und H.-W. Altmann . . . 582

BESPRECHUNGEN

Handbuch der Physik. Encyclopedia of Physics. Hrsg. von S. Flügge. Bd. XI. Teil 1: Akustik I. (Ref.: E. Meyer) 583
W. Gruhle, Elektronische Hilfsmittel des Physikers. (Ref.: W. Eisenmenger) . . . 584
Biochemistry of the Developing Nervous System. Proc. of the First Intern. Neurochemical Symposion Oxford, 13. bis 17. Juli 1954. Hrsg. H. Waelsch. (Ref.: G. Chr. Hirsch) 584

DIE NATURWISSENSCHAFTEN

48. Jahrgang Heft 17 (Erstes Septemberheft) 1961

Methämalbumin als Maßstab für biologisch aktives Hämin*)

Von Jörg Jensen, Milwaukee, USA.

Porphyrine, Hämine und andere Metallporphyrine haben in den letzten Jahren für verschiedene Gebiete der biologischen Forschung zunehmend an Interesse gewonnen. Als prosthetische Gruppen der Hämatinfermente hat man sich seit langem intensiv um die Aufklärung von Struktur und Funktion bemüht. Die Untersuchungen lassen sich etwa in drei zeitlich aufeinander folgende Abschnitte einteilen. Das Hauptgewicht lag im ersten Abschnitt auf der Strukturaufklärung der Hämine, später wurde ihr biochemischer Syntheseweg durch radiomarkierte Verbindungen aufgeklärt, und in jüngster Zeit ermöglichte der Fortschritt der Proteinchemie die Sequenzanalyse des Proteinanteils dieser Fermente.

Während sich die Strukturaufklärung als Ausgangsmaterial isolierter Fermente bediente, wurden zur Untersuchung des biochemischen Syntheseweges niedermolekulare, markierte Verbindungen herangezogen. Eine biologische Testung des Porphyrin- oder Häminmoleküls erlaubten diese Versuchsanordnungen dagegen nicht.

Erst durch die Auffindung von Mikroorganismen [1], [2], [3], welche den Häminanteil der Hämatinfermente nicht selbst synthetisieren können und für welche das Hämin als Wuchsstoff fungiert, wurde es möglich, isolierte sowie synthetisierte Verbindungen dieser Stoffklasse auf ihre biologische Aktivität zu prüfen. Unter den verschiedenen häminbedürftigen Mikroorganismen ist die von Jensen und Thofern [4] gefundene häminheterotrophe Staphylokokkenmutante JT/52 besser als andere Bakterien für derartige Aktivitätsprüfungen geeignet. Im Gegensatz zu anderen hämin- oder porphyrinheterotrophen Mikroorganismen zeichnet sich die Mutante JT/52 dadurch aus, daß sie nicht imstande ist, Eisen in den Porphyrinkern einzubauen. Außerdem kann sie in Abwesenheit von Porphyrinverbindungen gezüchtet werden und bildet hierbei die Apofermente ihrer Hämatinenzyme (Cytochromsystem und Katalase) voll aus. Ruhende Zellsuspensionen der Mutante JT/52 sind ferner in der Lage, in einem letzten Syntheseschritt (terminale Synthese) passende Hämine an die vorgebildeten Apofermente anzulagern.

Sei es, daß man die biologische Aktivität von Häminen in Abhängigkeit von der Konstitution und Anordnung ihrer Seitenketten untersucht (Thofern [5]), sei es, daß man den Mechanismus der terminalen Synthese aufzuklären versucht (Jensen [6]) oder daß man häminheterotrophe Bakterien als Testsysteme für biologisch oder chemisch synthetisierte Eisenporphyrinverbindungen benutzt — man ist darauf angewiesen, einen Maßstab für biologisch aktives Hämin zu haben.

Unter „Material und Methoden" findet man in der Literatur zahlreiche Hinweise darauf, daß Hämin in Lösung schnell an biologischer Aktivität nachläßt und daß man daher frische Lösungen benutzen muß — wie frisch? Hinsichtlich der benutzten Konzentrationen verlassen sich die einen auf ihre Einwaage, andere, eingedenk der Lösungsschwierigkeiten und der meist außerordentlich großen biologischen Wirksamkeit, sind vorsichtiger, indem sie spektrophotometrisch (Pyridinhämochromogen bei 558 mμ) und unter Berücksichtigung des Extinktionskoeffizienten die Konzentrationen ihrer Gebrauchslösung bestimmen. Es scheint dabei stillschweigend angenommen zu werden, daß die spektrophotometrisch gemessene Konzentration gleich der Konzentration biologisch aktiven Hämins sei — dem ist jedoch nicht so.

Um die Problemstellung zu charakterisieren und die Irrtümer darzulegen, denen der Untersucher ausgesetzt ist, wenn er nicht zwischen Konzentration schlechthin und biologisch wirksamer Konzentration unterscheidet, mag ein Beispiel aus unserem eigenen Erfahrungsbereich [7] dienen: Wir hatten hypothetisch angenommen, daß die Ursache für die seit langem bekannte Depression der Leberkatalase bei krebskranken Tieren in einer Störung der terminalen Katalasesynthese zu suchen sei. Dieser Arbeitshypothese folgend haben wir Tumorextrakte hinsichtlich ihrer Hemmwirkung auf die Katalasesynthese von JT/52 untersucht. Wir fanden in der Tat erhebliche Hemmwerte, besonders mit malignen Tumoren menschlicher Herkunft, fanden aber gleichzeitig, daß der Hemmeffekt um so größer war, je älter die Häminlösung war. Bei der spektrophotometrischen Analyse (direkt und als Pyridinhämochromogen) unterschieden sich frische und gealterte Häminlösungen nur ganz unwesentlich. Die Unterschiede im biologischen Versuch ließen sich daher nicht auf Konzentrationsunterschiede zurückführen; man muß vielmehr annehmen, daß die Häminlösung während des Alterns qualitative Veränderungen erfährt.

Es kann in diesem Zusammenhang nicht näher auf die Katalasehemmung durch Tumorextrakte eingegangen werden, es sei nur der späteren Schlußfolgerung wegen erwähnt, daß das Fraktionieren von Extrakten und kinetische Untersuchungen des Hemmungsmechanismus zu der Erkenntnis führten, daß nicht die terminale Synthese selbst gehemmt wird. Vielmehr ist der Grund für die Hemmung darin zu suchen, daß das Hämin von den Extrakten gebunden wird. Mit anderen Worten, die Tumorextrakte konkurrieren mit den Zellen um das Hämin. Die in dieser Beziehung aktiven Tumorfraktionen verhalten sich elektrophoretisch sowie bei der Alkohol- oder Salzfällung wie Serumalbumin, dem sie offenbar nahe verwandt sind.

Diese Befunde legten die Vermutung nahe, daß sich Häminlösungen als Folge eines Alterungsprozesses nicht nur hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität verändern, sondern auch hinsichtlich ihrer Reaktionsfähigkeit mit Albumin.

*) Zum Teil vorgetragen anläßlich des Advanced Study Program, Medizinische Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft, Göttingen, September 1960.

Seit FAIRLEYs [8] Untersuchungen ist es bekannt, daß Hämatin (Hämin in alkalischer Lösung) in vivo und in vitro mit menschlichem Serumalbumin eine Verbindung eingeht, die von ihm Methämalbumin genannt wurde. Methämalbumin hat ein charakteristisches Spektrum mit drei Banden im sichtbaren Bereich: α bei 623, β bei 540 und γ bei 500 mμ [8a, b]. Die sehr ausgesprochene und scharfe Soret-Bande bei 403 mμ ist, soweit uns bekannt, erstmalig von ROSENFELD und SURGENER [9] in einer sehr aufschlußreichen Arbeit über die Kinetik der Methämalbuminentstehung beschrieben worden. Diese beiden Autoren hatten ferner festgestellt, daß unter bestimmten Bedingungen ihre Häminlösungen nach kurzer Zeit bereits beträchtliche Mengen eines Hämins enthielten, das mit dem Albumin nicht mehr reagierte. An diesem inaktiven Häminanteil waren sie jedoch nur insofern interessiert, als er ihre kinetischen Studien störte.

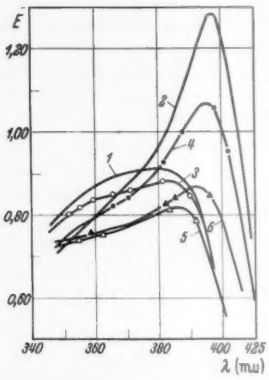


Fig. 1. Die Küvetten enthalten: 1. (——) 1,5 ml M/15 Phosphatpuffer pH 7,0 + 0,5 ml Häminlösung frisch aufgetaut; 2. (——) wie 1. + 0,1 ml menschliches Albumin 4%; 3. (o——o) wie 1., aber Häminlösung 5 Tage lang bei Zimmertemperatur gealtert; 4. (•——•) wie 3. + 0,1 ml menschliches Albumin 4%; 5. (▲——▲) wie 1., aber Häminlösung 21 Tage lang bei Zimmertemperatur gealtert; 6. (▲——▲) wie 5. + 0,1 ml menschliches Albumin 4%. — Alle Hämin-Albuminmischungen wurden nach 30 min bei Zimmertemperatur gemessen. Schichtdicke 1 cm. *Achtung:* Die Skala für λ ist versehentlich verschoben; die Zahlen sind um je 5 mμ (z. B. von 400 auf 405 mμ) zu vergrößern

Als wir begannen, Häminlösungen verschiedenen Alters und verschiedener biologischer Aktivität auf ihre Fähigkeit hin zu untersuchen, mit menschlichem Serumalbumin zu reagieren, stellte sich sehr bald heraus, daß die Reaktionsfähigkeit sehr wohl ein Maß für die biologische Aktivität des Hämins sein könne. Für die quantitativen Vergleichsuntersuchungen gingen wir folgendermaßen vor:

Material und Methode

Zwei Hämine (Ferriprotoporphyrin-Chlorid) verschiedener Herkunft[1]) wurden benutzt und verhielten sich identisch. 1 mg Hämin wurde in 25 ml volumetrische Kolben eingewogen, mit 0,5 ml 0,1 M NaOH gelöst und mit redestilliertem Wasser auf 25 ml aufgefüllt. Diese Stammlösung wurde in kleinere Portionen abgefüllt, von denen ein Teil sofort bei −65° C gefroren und der andere bei Zimmertemperatur aufgehoben wurde.

Als biologisches Testsystem diente die häminheterotrophe Staphylokokkenmutante JT/52. Der auf Blutagar gehaltene Stamm wurde in dünner Bouillonaufschwemmung zur Beimpfung von 250 ml Bouillon[2]) in 1000 ml Erlenmeyer-Kolben verwendet. Die Kolben wurden über Nacht bei 37° C auf einer Schüttelmaschine bebrütet, am nächsten Morgen zentrifugiert, die Sedimente in 20 ml red. Wasser gesammelt, nochmals in 20 ml Wasser gewaschen und dann in Wasser zu einer Dichte aufgeschwemmt, die etwa 4 mg Trockengewicht pro 0,1 ml Suspension entsprach. In Vorversuchen hatten wir festgestellt, daß derartig bereitete Suspensionen hinsichtlich ihrer potentiellen Katalase- und Atmungsaktivität stabil blieben (wenigstens bis zu vier Wochen), wenn sie „fraktioniert" gefroren wurden: 1 bis 2 ml Portionen in fest verschraubten Röhrchen für 1 Std bei −20° C und dann sofort zur Daueraufbewahrung bei −65° C.

Zwei verschiedene Albumine wurden benutzt „Normal Serum Albumin (Human) Salt-poor U.S.P." von: Cutter Laboratories; „Albumin, human, crystallized" von: Nutritional Biochemicals Corporation. Beide Präparate wurden in 4%iger Lösung verwendet. Die Wahl des Lösungsmittels, Wasser, 0,9% NaCl oder Phosphatpuffer war ohne Einfluß auf die Ergebnisse. Als Albuminquelle kann auch ohne Schwierigkeiten Serum verwendet werden, vorausgesetzt, daß es keine starke Eigenabsorption in den Meßbereichen zeigt.

Die Katalaseaktivität der Zellen wurde meist nach BEERS und SIZER [11] spektrophotometrisch unter Verwendung des Zeissschen Spektrophotometers (PMQ II) bestimmt. Die Hämin- und Methämalbuminspektren wurden mittels des Beckmanschen Recording Spektrophotometer (DK-2) fortlaufend gemessen.

Versuchsergebnisse — Methämalbumin

Zunächst war es notwendig, festzustellen, ob unsere Häminlösungen so aufbewahrt werden konnten, daß sie hinsichtlich ihrer Methämalbuminbildungsaktivität unverändert blieben. Wir fanden, daß Lösungen, die sogleich nach ihrer Bereitung bei −65° C eingefroren wurden, sich in ihrer Aktivität nicht veränderten, wenn sie zur Benutzung vorsichtig und ohne Schütteln bei Zimmertemperatur aufgetaut wurden. Dieser Befund erleichterte unsere Untersuchungen erheblich, da er erlaubte, gealterte und frische Proben derselben Häminlösung miteinander zu vergleichen. Fig. 1 gibt alle wesentlichen Daten eines solchen Parallelversuches wieder (Fig. 1). Sie zeigt, daß die Extinktion der Soret-Bande des mit gealtertem Hämin gebildeten Methämalbumins erheblich geringer ist als die des mit frisch aufgetautem Hämin gebildeten. Fernerhin wird der Einfluß der Länge des Alterns auf die Größe dieses Unterschiedes deutlich. Im Gegensatz dazu sind die Unterschiede zwischen frischem und gealtertem Hämin allein (ohne Albumin) recht gering. Während die Form des breiten Absorptionsrückens des Hämins mit seinem Maximum bei 383 mμ sich unter dem Einfluß des Alterns nur wenig verändert, abgesehen von einer geringfügigen Rechtsverschiebung des Maximums, wird die scharfe Soret-Bande des Methämalbumins (Maximum 403 mμ) zunehmend flacher und breiter und erfährt eine deutliche Verschiebung in Richtung des kürzeren Wellenbereiches.

Um diese Unterschiede in Zahlen ausdrücken zu können, haben wir durch Vergleich der Extinktionen bei 383 mμ (Hämin) mit denen bei 403 mμ (Methämalbumin) den durch die Methämalbuminbildung verursachten Absorptionszuwachs in Prozent ausgedrückt.

Wir haben gefunden, daß, solange Albumin im Überschuß vorhanden ist, der prozentuale Zuwachs in

[1]) Ein Präparat ist dasselbe gereinigte Hämin, das von JENSEN und THOFERN bereits 1953 verwendet wurde; das zweite ist ein Präparat der Nutritional Biochemical Corporation.

[2]) BOUILLON: Brain Heart Infusion. Baltimore, Biological Laboratory.

weiten Grenzen von der ursprünglichen Häminkonzentration unabhängig ist und daß daher Häminlösungen miteinander verglichen werden können, die in ihrer Einwaage um mehr als 50% voneinander abweichen.

Die Tabelle 1 zeigt die Abhängigkeit dieses prozentualen Extinktionszuwachses von der Länge des Alterungsprozesses der Häminlösung.

Tabelle 1

Alter der Häminlösung in Tagen	E 383 mμ Hämin	E 403 mμ Meth. alb.	% Zuwachs	E 383 mμ Hämin-Kontrolle	E 403 mμ Meth. alb.-Kontrolle	% Zuwachs Kontrolle
0	0,957	1,345	29,0	—	—	—
	0,980	1,405	30,0	—	—	—
5	0,895	1,085	18,0	—	—	—
7	0,920	1,070	14,0	0,975	1,404	30
	0,870	1,040	16,0	0,930	1,330	30
9	0,900	1,040	13,0	0,930	1,300	29
13	0,845	0,910	7,0	0,947	1,340	29
16	0,820	0,864	5,0	0,950	1,335	29
21	0,832	0,883	5,0	0,915	1,290	29

Materialien und Versuchsanordnung wie in der Legende zu Fig. 1 beschrieben. Die letzten drei Säulen der Tabelle 1 geben die Werte wieder, welche die an den entsprechenden Tagen frisch aufgetauten Häminlösungen ergaben.

Die Reaktion zwischen Hämin und Albumin, die zu der Ausbildung des typischen Methämalbuminspektrums führt, ist bei Zimmertemperatur nach etwa 20 bis 30 min abgeschlossen. Die Tabelle 2 zeigt die Ausbildung der Soret-Bande des Methämalbumins in Abhängigkeit von der Reaktionszeit zwischen Albumin und Hämin.

Tabelle 2*)

Zeit in Minuten	E 383 mμ Hämin	E 403 mμ Meth. alb.	% Zuwachs
—	0,98	—	—
1	0,98	1,265	22,5
5	0,98	1,325	26,0
10	0,98	1,360	28,0
30	0,98	1,400	30,0
40	0,98	1,405	30,25

*) Alle Werte korrigiert für Eigenabsorption von 0,1 ml 4% Albumin in 2,1 ml Puffer.

Entsprechend den Werten der Tabelle 2 erlaubten wir für alle beschriebenen Versuche eine Reaktionszeit von 30 min (Zimmertemperatur), bevor die Messungen vorgenommen wurden.

Biologische Aktivität

Um die biologische Aktivität der Häminlösungen zu messen, wurden die Kataleaseaktivität und die Atmungsaktivität von JT/52 als Kriterien gewählt. Beide wurden im wesentlichen entsprechend früher beschriebener Techniken gemessen (JENSEN und THOFERN [*4*]). Der größeren Genauigkeit und Einfachheit wegen wurde die Katalase später meist nach BEERS und SIZER [*10*] spektrophotometrisch bestimmt. Durch Kontrollversuche mit definierten Mischungen, bestehend aus Suspensionen katalaseaktiver und kataleaseinaktiver Staphylokokken, hatten wir uns davon überzeugt, daß der Abfall der Extinktion bei 240 mμ dem Anteil katalaseaktiver Zellen im Gemisch direkt proportional ist. Somit war die Methode von BEERS und SIZER [*10*] für unsere Zwecke verwendbar.

Um quantitative Aussagen über die Aktivität der Häminlösungen verschiedenen Alters machen zu können, wurden Serienverdünnungen hergestellt und die Konzentrationen miteinander verglichen, die nach Inkubation mit einer gegebenen Zellaufschwemmung gerade noch maximale Atmungsintensität oder Kataleaseaktivität verursachten.

Die Fig. 2 faßt unsere Ergebnisse zusammen. Sie zeigt deutlich die Parallelität zwischen dem Abfall der biologischen Aktivität einerseits und des Methämalbuminbildungsvermögens andererseits in Abhängigkeit vom Alter der Häminlösungen. Ferner zeigt sie für beide Testarten die Stabilität der tiefgefrorenen Häminlösungen, den nur sehr langsamen Extinktionsabfall der bei Zimmertemperatur aufbewahrten Häminlösungen und schließlich die ebenfalls beträchtliche Diskrepanz zwischen dem Einfluß des Alterns auf die biologische Aktivität und auf die Ausbildung des Pyridinhämochromogenspektrums.

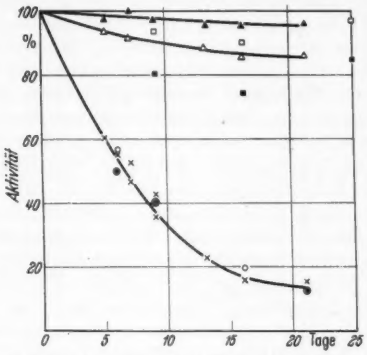


Fig. 2. Abszisse: Alter der Häminlösungen in Tagen (Zimmertemperatur). Ordinate: Prozent der ursprünglichen Aktivität frisch hergestellter Häminlösung. +——+ Methämalbumin (% Extinktionszuwachs bei 403 mμ); •——• Atmung; ○——○ Katalase; ▲——▲ Hämin allein (E bei 383 mμ); □——□ Pyridinhämochromogen (E bei 525 mμ); ■——■ Pyridinhämochromogen (E bei 558 mμ); ▼——▼ Methämalbumin (Extinktionszuwachs bei 403 mμ) mit jeweils frisch aufgetauten, bei —65° C aufbewahrter Häminlösung

Diskussion der Ergebnisse

Unsere Versuchsergebnisse sowie die Erfahrungen zahlreicher anderer Untersucher werfen die Frage nach den Ursachen für die altersbedingte Inaktivierung von Häminlösungen auf. Unseres Wissens ist sehr wenig in dieser Hinsicht bekannt. KUHN und BRANN [*11*] haben 1927 beobachtet, daß sich frische und gealterte Häminlösungen erheblich in der p_H-Abhängigkeit ihrer katalytischen (H_2O_2-Spaltung) Wirkung von einander unterscheiden und daß dreitägiges Kochen etwa zweijährigem Altern bei Zimmertemperatur äquivalent ist. Da frisch gelöstes Hämatin eine sehr viel geringere Abnahme seiner katalytischen Wirksamkeit mit sinkendem p_H zeigt als Hämin selbst und da gealterte Häminlösungen eine sehr viel höhere Chlorionenkonzentration haben als frisch dargestellte, nehmen die Autoren an, daß das Altern eine Umwandlung von Hämin in Hämatin zur Folge hat. Diese Erklärung dürfte jedoch aus verschiedenen Gründen für das von uns beobachtete Phänomen nicht zutreffen: Einerseits ist die katalatische Wirksamkeit von Hämin und Hämatin bei dem von uns benutzten p_H (p_H 7,0 bis 7,5) annähernd gleich, und andererseits bedingt unsere Methodik beim Herstellen der Lösungen von vornherein eine Umwandlung von Hämin in Hämatin. Darüberhinaus aber ist die direkte Wirksamkeit des Hämins im Vergleich mit

seiner Wirkung als prosthetische Gruppe der Katalase so gering, daß man schon deshalb geneigt ist, verschiedene Ursachen für die beiden Phänomene anzunehmen. Wir vermuten, daß durch das Altern Strukturelemente des Hämins verändert oder unzugänglich werden, die für seine spezifische Bindung an das Protein notwendig sind. Für diese Annahme spricht, daß im Anlagerungshemmungsversuch (JENSEN und THOFERN [*12*]) gealtertes Hämin nicht die Anlagerung frischen Hämins hindert; dies trifft sowohl für den Versuch in vivo (Katalase und Cytochromsystem bei JT/52) als auch für die Methämalbuminbildung zu.

Man ist versucht anzunehmen, daß dieselben Gruppen, mit denen sich das Hämin an das Albumin bindet, auch bei der Synthese der Hämatinfermente beteiligt sind. Zwar ist es unwahrscheinlich, daß eine direkte Analogie zwischen den Hämin-Albumin- und Hämin-Apoenzym-Bindungen besteht (siehe z.B. spontane Dissoziation von Methämalbumin zwischen p_H 7,0 und 4,6 [*11*]), aber es ist sehr wohl möglich, daß der komplexe Vorgang der terminalen Synthese [*6*] reversible Verbindungen einschließt, die der Hämin-Albumin-Bindung ähnlich sind. In diesem Zusammenhang wäre es interessant, die Methämalbuminbindungsfähigkeit verschiedener Eisenporphyrinverbindungen zu untersuchen und sie mit den von THOFERN [*5*] gefundenen biologischen Aktivitäten derartiger Derivate zu vergleichen. Abgesehen von der aus Fig. 2 ersichtlichen Parallelität zwischen biologischer Aktivität und Methämalbuminbildungsvermögen in Abhängigkeit vom Alter der Häminlösung, spricht für unsere Annahme auch der folgende Befund: Es besteht eine direkte quantitative Beziehung zwischen dem Alter einer Häminlösung und der Menge Albumins, die man benötigt, um die terminale Katalasesynthese von JT/52 zu hemmen: Je älter die Häminlösung, desto kleiner die zur Hemmung ausreichende Albuminmenge. Nimmt man an, daß in einer alternden Häminlösung biologisch aktives Hämin zugunsten des inaktiven mit der Zeit an Konzentration abnimmt, so muß man aus diesen Versuchen schließen, daß das Albumin mit den Zellen nur um den biologisch aktiven Anteil konkurriert, während für den inaktiven Anteil keiner der Konkurrenten Verwendung hat.

Da bekannt ist, daß Hämin zu Komplex- und Mizellenbildung neigt, darf man bei Interpretationsversuchen nicht übersehen, daß eine etwa mit dem Altern zunehmende Komplexbildung sowohl die Aufnahme des Hämins durch die Zelle beschränken als auch seine Reaktionsfähigkeit für das Albumin beeinträchtigen kann.

Die Methämalbuminbildung ist nicht nur interessant in Hinblick auf die Struktur und die Aktivität von Häminderivaten, sondern auch hinsichtlich der Eigenschaften des Albumins. FAIRLEY [*8b*] hatte bereits gefunden, daß nur Menschen- und Affenserum[1]) zur Bildung von Methämalbumin geeignet ist (Bande bei 623 mμ). Wir können das bestätigen, finden aber überdies, daß die Soret-Banden bei 403 mμ starke Speziesunterschiede aufweisen, die sich mit denen bei 623 mμ nicht decken. Pferdeserum oder -albumin gibt z.B. eine wie bei menschlichem Albumin stark ausgeprägte Bande bei 403 mμ, aber keine bei 623 mμ, 540 mμ und 500 mμ. Dagegen verändert der Zusatz von Rinderalbumin das gesamte Häminspektrum nur ganz unwesentlich. Kaninchenserum gibt eine starke Soret-Bande, die aber etwas verschoben ist (408 mμ) und eine sonst bisher nirgends gesehene bei 565 mμ. Derartige Unterschiede deuten darauf hin, daß verschiedene Albumine, wenn sie überhaupt mit Hämin reagieren, unterscheidbare Hämin-albuminverbindungen geben. Fernerhin scheint die Ausbildung der Bande bei 623 mμ auf Eigenschaften des Albumins hinzuweisen, denen eine gewisse phylogenetische Spezifität zukommt. Die Hämin-Albumin-Bindung, die durch die Bande bei 623 mμ charakterisiert ist, zeichnet sich auch noch in anderer Beziehung aus: Hämin, das in dieser Weise gebunden ist, ist für JT/52 nicht verfügbar; in Gegenwart dieses Methämalbumins bleiben die Staphylokokken auch nach längerer Inkubationszeit völlig katalaseinaktiv. Albumine dagegen, die nur die Bande bei 403 mμ, aber nicht die bei 623 mμ bilden (Pferd), scheinen das Hämin nur so locker zu binden, daß es für die Staphylokokken verfügbar bleibt; in Gegenwart solcher Albumine konnten wir keine Hemmung der Hämatinfermentsynthese feststellen. Interessanterweise liegen zwischen diesen beiden Extremen die oben erwähnten Tumorextrakte; ihre Albuminfraktionen gehen Häminverbindungen ein, die sich durch ausgesprochene Soret-Banden, aber schwache Banden bei 623 mμ auszeichnen und die außerdem bei längerer Bebrütung das Hämin wieder an die Staphylokokken abgeben.

Es wäre erstaunlich, wenn angesichts der Tatsache, die über die Häminbindungsfähigkeit des Albumins bekannt sind, sich die wichtige Transportfunktion des Albumins nicht auch auf Hämin und seine Derivate erstrecken sollte. Wir sind berechtigt anzunehmen, daß feine Strukturveränderungen des Albumins, die sich der chemischen Analyse bisher noch entziehen, diese Funktion entscheidend beeinflussen können. — Aus derartigen Überlegungen ergeben sich eine Reihe interessanter Hypothesen, deren fruchtbare Erörterung wir uns jedoch versagen müssen, solange unsere experimentellen Daten hinsichtlich der Bedingungen der Methämalbuminbildung und der Möglichkeit ihrer Beeinflussung noch so unzureichend sind.

Die Arbeit wurde unterstützt durch: Research grant C-3165, National Cancer Institute, U.S. Public Health Service.

[1]) Seren von Cercopithicus aethiopis, Macacus iris, M. rhesus, M. sinicus wurden von ihm untersucht.

Literatur

[*1*] LWOFF, A.: Zbl. Bakteriol., Abt. I, Orig. **130**, 498 (1933). — [*2*] LWOFF, A., u. M. LWOFF: Ann. Inst. Pasteur **59**, 129 (1937). — [*3*] GRANICK, S., u. H. GILDER: Science **101**, 540 (1945); — J.Gen. Physiol. **30**, 1 (1946). — [*4*] JENSEN, J., u. E. THOFERN: Z. Naturforsch. **8b**, 599 (1953). — [*5*] THOFERN, E.: Ergebn. Mikrobiol. **34**, 213 (1961). — [*6*] JENSEN, J.: J. Bacteriol. **73**, 324 (1957). — [*7*] JENSEN, J., u. N. BOUCHER: Vortrag S. A. B. North Central Branch, Okt. 1959. — [*8*] FAIRLEY, H.N.: Quart. J. Med. a) **10**, 95 (1941); b) **10**, 115 (1941). — [*9*] ROSENFELD, M., u. D.M. SURGENOR: J. Biol. Chem. **183**, 663 (1950). — [*10*] BEERS, R.F., u. I.W. SIZER: J. Biol. Chem. **195**, 133 (1952). — [*11*] KUHN, R., u. L. BRANN: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **168**, 27 (1927). — [*12*] JENSEN, J., u. E. THOFERN: Z. Naturforsch. **8b**, 697 (1953).

Department of Microbiology and Immunology, Marquette University, School of Medicine, Milwaukee/Wis., USA

Eingegangen am 22. März 1961

Kurze Originalmitteilungen

Für die Kurzen Originalmitteilungen sind ausschließlich die Verfasser verantwortlich

Ein einfaches Interferenzmikroskop für Auflicht

Interferenzmikroskopische Anordnungen für Auflicht-Beobachtungen sind in verschiedenen Typen bekannt und werden zur Bearbeitung zahlreicher naturwissenschaftlicher und technischer Probleme angewendet[1]). Jeder dieser Typen weist gegenüber den anderen spezielle Vor- und Nachteile auf, die ihn für bestimmte Anwendungsbereiche geeignet erscheinen lassen, für andere dagegen nicht. — Im folgenden wird nun eine neue Anordnung mitgeteilt, die bei einfachem Aufbau möglichst weite Anwendungsbereiche haben soll. Sie hat die Eigenschaft, daß die mit den Objektstrahlen interferierenden Vergleichsstrahlen keine materielle Fläche treffen, die *zusammen* mit dem zu untersuchenden Objekt-Flächenstück abgebildet wird. Dadurch wird ein direkter *Vergleich* zweier Flächenelemente vermieden, so daß *Absolut*-Untersuchungen der Objekt-Oberfläche möglich werden, unabhängig von un-

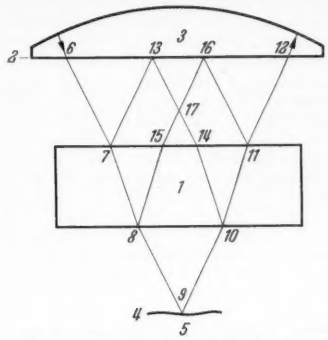


Fig. 1. Interferenzanordnung des Auflicht-Interferenzmikroskops. (Erklärung im Text)

bekannten Fehlern einer Vergleichsfläche. Diese Eigenschaft hat die Anordnung mit einer bereits früher entwickelten[2]) gemeinsam, und durch diese Eigenschaft unterscheidet sie sich unter anderem von einer Anordnung nach MIRAU [[1]), S. 52].

Gearbeitet wird mit *Drei*strahl-Interferenzen, die entsprechend Fig. 1 erzeugt werden. Dies geschieht durch die beiderseitig (mit bestimmten Verspiegelungsgraden) teildurchlässig verspiegelte Planparallelplatte 1, die an einem normalen Auflicht-Mikroskop in der Mitte zwischen der Planfläche 2 der Objektiv-Frontlinse 3 und der Oberfläche 4 des Objekts 5 angebracht ist, und zwar parallel zu 2. Zweckmäßig erfolgt das durch eine justierbare mechanische Verbindung von 1 mit 3. — Das Licht tritt in der bei einem Auflicht-Mikroskop üblichen Weise seitlich in den Mikroskoptubus ein, wird dort nach unten umgelenkt und passiert das Objektiv, siehe z. B. Strahl 6. Dieser erfährt in seinem weiteren Verlauf verschiedene Aufspaltungen und Wiedervereinigungen. Dabei sind die folgenden drei Verläufe hier wesentlich:

(a) 6 — 7 — 8 — 9 — 10 — 11 — 12,
(b) 6 — 7 — 13 — 14 — 10 — 11 — 12,
(c) 6 — 7 — 8 — 15 — 16 — 11 — 12.

Man hat somit *einen* Objektstrahl (a) und *zwei* zugehörige Vergleichsstrahlen (b, c). Diese beiden Vergleichsstrahlen haben miteinander stets den Gangunterschied null, zufolge der erwähnten Justierung von 1 gegenüber 3 (kontrollierbar durch Beobachtung der Interferenzerscheinung in der objektabgewandten Brennebene des Objektivs). Gegenüber ihrem Objektstrahl (a) jedoch haben jene beiden Vergleichsstrahlen *verschiedenen* Gangunterschied, d. h. längs 4 erscheinen Interferenzen gleicher Dicke. Dabei ist jedoch keine materielle Vergleichsfläche im oben angedeuteten Sinn vorhanden; denn der mit 9 zusammen abgebildete Punkt 17 liegt in der Luft. Auch handelt es sich hier um kein Doppelfokusverfahren [[1]), S. 122], bei dem auch die Vergleichsstrahlen noch über das Objekt gehen und insofern noch relativen Charakter haben.

Etwa noch auftretende störende Strahlen mit anderen (von a, b und c verschiedenen) Verläufen lassen sich durch Kombination einer geeigneten Beleuchtungsaperturblende (ringförmige Durchlässigkeit) und Gesichtsfeldblende (nahe der Lichtquelle und außerdem am Okular) ausschalten. Die Fläche 2 kann z. B. teildurchlässig spiegelnd oder, ähnlich wie bei MIRAU [l. c.], nur in der Mitte verspiegelt sein, und zwar dort total. — Ein erster Versuchsaufbau wurde von Fräulein Dipl.-Phys. MINOR und dem Verfasser durchgeführt und erprobt.

Institut für Optik und Spektroskopie der Deutschen Akademie der Wissenschaften, Berlin-Adlershof

GÜNTER SCHULZ

Eingegangen am 30. Mai 1961

[1]) KRUG, W., J. RIENITZ u. G. SCHULZ: Beiträge zur Interferenzmikroskopie. Berlin: Akademie-Verlag 1961. — [2]) SCHULZ, G.: Optik 17, 25 (1960).

Optimalbedingungen beim Bandwalzen unter Berücksichtigung der Bandelastizität

Die Ermittlung der kleinsten walzbaren Banddicke ist bereits mehrmals[1]), mit Berücksichtigung der elastischen Eigenschaften des Walzgutes allerdings nur von FORD und ALEXANDER[2]), untersucht worden; die Lösung kann man jedoch auf andere Weise einfacher erhalten.

Zwei von HERTZ[3]) behandelte Kontaktprobleme — Kreiszylinder/Kreiszylinder (hier Fall I genannt), Kreiszylinder/Halbraum (Fall II) — lassen sich als Grenzfälle des zwischen kreiszylindrischen Walzen lediglich elastisch beanspruchten Bandes auffassen: unendlich dünnes Band ($h = 0$, Fall I) bzw. unendlich dickes Band ($h \to \infty$, Fall II). Für diese Fälle ergibt sich die Breite der Kontaktzone, die sog. gedrückte Länge beim Bandwalzen, aus

$$\text{Fall I:} \qquad l^2 = c\,P r, \tag{1}$$

$$\text{Fall II:} \qquad l^2 = 2c\,P r, \tag{2}$$

wobei r den Walzenradius, P die Druckkraft (Walzkraft je Breiteneinheit des Bandes) und

$$c = (16/\pi) \cdot (1 - \nu_W^2)/E_W \tag{3}$$

bedeuten (ν_W Querdehnungszahl, E_W Elastizitätsmodul des Walzenwerkstoffs). Angaben über die Konstante c nach Gl. (3) finden sich auch bei PRESCOTT[4]) und später bei HITCHCOCK[5]). Beim Walzen dünner Bänder wird man einen Beiwert c' einsetzen müssen, der nach den Gln. (1) und (2) zwischen c und $2c$, jedenfalls aber nahe bei c liegen wird:

$$l^2 = c'\,P r. \tag{4}$$

Vorerst werde als erste Näherung Gl. (1) benutzt.

Mit der Annahme einer parabolischen Pressungsverteilung[2]) über l, die nicht wesentlich von der elliptischen nach HERTZ abweicht, geht Gl. (1) mit $P = \frac{2}{3}\,p_{\max}\,l$ über in

$$l = \tfrac{2}{3}\,c\,p_{\max}\,r. \tag{5}$$

Die maximale Walzenpressung $p_{\max}$ ergibt sich für die Grenze der rein elastischen Belastung aus der Fließbedingung für die höchst beanspruchte Stelle:

$$p_{\max} - \mu\,P/h = k, \tag{6}$$

wobei k der Fließgrenze proportional ist (μ Gleitreibungskoeffizient). Durch Vereinigung der Gln. (5) und (6) folgt die Bestimmungsgleichung für die minimale Banddicke zu

$$\mu\,\alpha^2\vartheta - \tfrac{3}{2}\,\alpha + c\,k = 0 \tag{7}$$

($\alpha = l/r$, $\vartheta = r/h$), woraus für $\vartheta_{\max}$ wegen $d\vartheta/d\alpha = 0$

$$\alpha\,\vartheta = 3/(4\mu), \tag{8}$$

$$\psi = h_{\min}/(c\,k\,r) = (16/9) \cdot \mu \tag{9}$$

folgt. Gl. (9) stimmt in erster Näherung mit der von FORD und ALEXANDER[2]) gegebenen Lösung überein. Eine bessere Näherung als Gl. (9) erhält man, wenn statt c der Beiwert c' nach Gl. (4) eingeführt wird:

$$\psi = \frac{16}{9}\,\mu\,\frac{c'}{c}. \tag{10}$$

Zur Abschätzung von c wird für den effektiven Radius r' des Berührungsbogens nach HILL[6]) gesetzt:

$$1/r' = 1/r - c\,P/l^2 \tag{11}$$

woraus mit Gl. (4):

$$r/r' = 1 - c/c'. \tag{12}$$

Andererseits gilt mit der maximalen Zusammendrückung des Bandes

$$\Delta h \approx (1 - \nu_B^2)\,\frac{p_{\max}}{E_B}\,h; \tag{13}$$

$$l^2 = 4r'\,\Delta h \tag{14}$$

(ν_B Querdehnungszahl, E_B Elastizitätsmodul des Bandwerkstoffes). Vereinigung der Gln. (3), (5) mit c', (8), (13) und (14) liefert:

$$\frac{r}{r'} = 8\,\frac{1-\nu_B^2}{E c'}\,\mu. \tag{15}$$

Aus dem Vergleich der Gln. (12) und (15) ergibt sich

$$\frac{c'}{c} = 1 + \frac{\pi}{2}\,\frac{1-\nu_B^2}{1-\nu_W^2}\,\frac{E_W}{E_B}\,\mu. \tag{16}$$

Es kann gezeigt werden, daß Gl. (10) nach Einführung von (16) mit der Lösung von FORD und ALEXANDER identisch ist. Wenn $\nu_B = \nu_W$ ist, läßt sich noch schreiben:

$$\psi = \frac{16}{9}\left(1 + \frac{\pi}{2}\,\frac{E_W}{E_B}\,\mu\right)\mu. \tag{17}$$

Technische Hochschule, Aachen

ALEX TROOST

Eingegangen am 20. Mai 1961

[1]) TONG, K., u. G. SACHS: J. Mech. Phys. Sol. **6**, 35 (1957). — TROOST, A., u. K. HOELLING: Arch. Eisenhüttenw. (im Druck). — [2]) FORD, H., u. J. M. ALEXANDER: J. Inst. Metals **88**, 193 (1960). — [3]) HERTZ, H.: Ges. Werke Bd. 1. Leipzig 1894. — [4]) PRESCOTT, J.: Applied Elasticity, S. 633. London 1924. — [5]) TRINKS, W., u. J. H. HITCHCOCK: Roll Neck Bearings. Report of ASME [New York] **1935**, S. 33. — [6]) HILL, R.: Proc. Inst. mechan. Engr. **163**, 135 (1950).

Zwei Phänomene der Ausbreitung von Quecksilber auf Goldoberflächen

Die Ausbreitung flüssiger Metalle, z. B. Quecksilber, auf der Oberfläche fester Metalle ist nicht, wie bisher angenommen, ein Diffusionsvorgang, sondern eine reine Kapillarerscheinung[1]). Als Kapillarraum wirkt normalerweise die Grenzfläche Metalloberfläche/Deckschicht (Oxyd, Sulfid u. ä.). Geeignete Kapillarsysteme stellen jedoch auch aufgerauhte Metalloberflächen dar. Die Aufrauhung kann etwa auf mechanischem Wege (z. B. Schnittriefen), durch thermische Behandlung oder, besonders wirkungsvoll, durch elektrochemische Lösungs- bzw. Abscheidungsvorgänge erfolgen. In kathodisch abgeschiedenem Metallschwamm kann das sich ausbreitende Quecksilber in wenigen Minuten Steighöhen von 30 bis 40 cm erreichen. Diese Ausbreitungserscheinung kann zur Bestimmung des Porositätsgrades des Niederschlages verwendet werden und bietet außerdem ein geeignetes Verfahren zur Herstellung von Amalgamen und ähnlichen Legierungen, da sich in relativ kurzen Versuchszeiten die Gleichgewichtskonzentrationen einstellen.

Im Zusammenhang mit der Wirkung aufgerauhter Metalloberflächen ist der Befund von Interesse, daß auf reinem Gold, das bei glatter und deckschichtfreier Oberfläche keine Ausbreitung zeigt, eine deutliche Hg-Ausbreitung stattfindet (Steighöhe in 2 min etwa 0,5 cm), wenn grobkörniges Ausgangsmaterial in kaltverformtem Zustand (Walzen, Zugbelastung) verwendet wird. An verformten feinkörnigen Proben wird diese Erscheinung nicht beobachtet. Das bei dem Ausbreitungsvorgang wirksame Kapillarsystem ist, wie elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, durch eine submikroskopisch feine Aufrauhung der Goldoberfläche bedingt. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit ist unmittelbar nach der Kaltverformung am größten; sie klingt mit zunehmender Auslagerungszeit (Raumtemperatur) allmählich ab, um nach extrem langen Versuchszeiten (etwa 1 Jahr) schließlich gegen Null zu gehen. Ursache dieser Zeitabhängigkeit ist offenbar das Ablaufen von Erholungsvorgängen, denen zufolge die genannte Oberflächenrauhigkeit allmählich abgebaut wird. Es liegt daher nahe, die Hg-Ausbreitungsgeschwindigkeit als Maß für den Erholungszustand heranzuziehen. Damit war zu erwarten, daß die Geschwindigkeit nach dem Zeitgesetz $v = A \cdot \exp(-t/\tau)$ abnehmen würde. Dies ist in der Tat der Fall. Beim Auftragen von $\ln v$ gegen t ergeben sich eindeutig Geraden. Lediglich im Anfangsstadium (etwa 1 Tag) findet demgegenüber ein schnellerer Geschwindigkeitsabfall statt. Dieser Bereich der Kurven zeigt einen gleichen Verlauf, wie er auftritt, wenn die Abnahme des spez. elektrischen Widerstandes als Parameter des Erholungsvorgangs gemessen wird[2]),[3]),[4]). Der sich anschließende geradlinige Bereich ist für einen Zeitraum von mehreren Wochen nachgewiesen. Die Neigung der Geraden ist innerhalb des untersuchten Variationsbereiches unabhängig vom Verformungsgrad, so daß eine Bestimmung der Abklingkonstante τ reproduzierbare Werte liefert. Für τ wird der Wert 415 h gefunden.

Bezüglich des Zustandekommens der submikroskopischen Oberflächenrauhigkeit wird angenommen, daß die infolge der Kaltverformung erzeugten Versetzungen während des Verformungsvorganges an die Oberfläche der grobkörnigen Proben wandern und daß die Gesamtheit der Durchstoßpunkte der einzelnen Versetzungslinien jene submikroskopische Oberflächenaufrauhung bildet. Verständlicherweise wird diese sich nur dann in vollem Umfange ausbilden können, wenn das Material so grobkörnig ist, daß jeweils nur ein Korn den Probenquerschnitt ausfüllt. Bei feinkörnigen Proben enden die Versetzungslinien größtenteils im Innern des Probenquerschnittes an den Korngrenzen. Der allmähliche Abbau der Rauhigkeit läßt sich zwanglos durch das Wandern von nulldimensionalen Gitterfehlern an die Probenoberfläche deuten, wobei Versetzungen bekanntlich Zwischengitteratome und Leerstellen aufnehmen können.

Besonders geartet ist die Hg-Ausbreitung auf Goldkathoden, an denen als elektrochemischer Prozeß die Entladung von H^+-Ionen stattfindet. Die Ausbreitung ist eindeutig an die gleichzeitige H_2-Abscheidung gebunden. Nach Unterbrechung des Stromflusses oder bei zu kleinen Stromdichten wird kein Weiterwandern der Hg-Front mehr beobachtet, ebenso nicht außerhalb des Elektrolyten. Es handelt sich hier offensichtlich um eine spezifische Wirkung des atomaren Wasserstoffes, da weder eine Umspülung von Goldblechen mit molekularem Wasserstoff noch die elektrochemische Abscheidung von O_2 oder CO_2 eine Ausbreitung von Quecksilber auf den Goldoberflächen zur Folge haben. — Zur endgültigen Klärung der Ursache der genannten Ausbreitungserscheinung müssen noch weitere Versuche ausgeführt werden. Als eine Deutungsmöglichkeit wäre eventuell die Ausbildung von Hydridschichten während der Abscheidung des Wasserstoffes zu diskutieren.

Institut für Metallforschung der Universität, Münster

TH. HEUMANN und K. FORCH

Eingegangen am 21. Juni 1961

[1]) HEUMANN, TH., u. K. FORCH: Metall **14**, 691 (1960) (dort weitere Literaturangaben). — [2]) BAUERLE, J. E., u. J. S. KOEHLER: Physic. Rev. **107**, 1493 (1957). — [3]) BRADSHAW, F. J., u. S. PEARSON: Phil. Mag. **2**, 379 (1957). — [4]) SORBO, W. DE: Physic. Rev. **117**, 444 (1960).

Absorbierte Betastrahlendosen in Polymetacrylsäuremethylester und Polyvinylchlorid

Mit Hilfe einer Extrapolationskammer nach ROESCH und DONALDSON[1]), deren Elektrodensystem einmal aus oberflächlich graphitiertem Polymetacrylsäuremethylester (PAME) und zum anderen aus graphitiertem Polyvinylchlorid (PVC) bestand, wurden die Tiefendosisverteilungen in diesen beiden Kunststoffen für die β-Strahler $Sr^{90} + Y^{90}$ (Gleichgewicht), P^{32} und Tl^{204} untersucht, indem Kammerfrontplatten verschiedener Dicke eingesetzt wurden. Die auf Sättigung extrapolierten und auf Normalbedingungen des Füllgases (Luft) korrigierten Kammerströme wurden nach einem Influenzierungsverfahren[2]) gemessen, wobei ein Schwingkondensatorelektrometer des Typs FH 408 als Nullinstrument Verwendung fand. Unter Benutzung der mittleren Werte $S_{PAME} = 1{,}12$ und $S_{PVC} = 0{,}99_2$ für die relativen Bremsvermögen und eines $W_{Luft} = 33{,}9$ eV[3]) für den durchschnittlichen Ionisierungsaufwand in Luft wurden die absorbierten Energien E bei Anwendung der Bragg-Grayschen Relation $E = S \cdot W \cdot I$ aus den jeweils gemessenen Ionisationsdichten I angenähert berechnet. Die Präparatabstände von den Kunststoffoberflächen betrugen durchweg 50 mm. Die Präparataktivitäten waren: 9 mc $\pm$ 3% bei $Sr^{90} + Y^{90}$, 4 mc $\pm$ 5% bei P^{32} und 8 mc $\pm$ 10% bei Tl^{204}. Die Flächendichte der aktiven Substanz bei $Sr^{90} + Y^{90}$ erschien in ihrem Einfluß auf die Selbstabsorption vernachlässigbar, während die Flächendichten der anderen Präparatsubstanzen bei einer mittleren aktiven Fläche von $\approx 0{,}4$ cm² zu 75 mg/cm² bei P^{32} und 29 mg/cm² bei Tl^{204} be-

stimmt wurden. Die Strahlung des $Sr^{90} + Y^{90}$-Präparates war durch 1 mm Kunststoffglas vorgefiltert. Trotzdem dürften die in der Fig. 1, Kurven A (PAME, also etwa gewebeäquivalentes

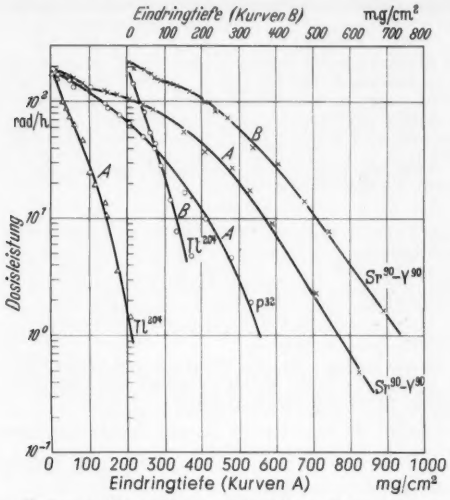


Fig. 1. Kurven A: Absorption von β-Strahlen in Polymetacrylsäuremethylester (PAME). — Kurven B: Absorption von β-Strahlen in Polyvinylchlorid (PVC)

Material) und Kurven B (PVC) dargestellten Meßergebnisse für viele dosimetrische Anwendungen von Interesse sein.

Institut für angewandte Radioaktivität der DAW (Direktor: Prof. Dr. C. F. Weiss), Leipzig O 5, Permoserstraße 15

G. Brunner und E. Schönberg

Eingegangen am 25. Mai 1961

[1]) Genfer Berichte **14**, 172 (1955). — [2]) Brunner, G.: Z. angew. Physik **10**, 98 (1958). — [3]) Brunner, G.: Kernenergie **2**, 877 (1959).

Über Diapirismus und Alttertiär in Nordspanien

Werden bewegliche spezifisch leichte Gesteinsschichten von einer mächtigen Folge schwererer Ablagerungen überdeckt, so kann das mobile Material die auflastenden Schichten durchbrechen und zur Erdoberfläche aufsteigen; ein so entstandenes Gebilde nennt man Diapir (von Mrazec 1914 abgeleitet aus διαπείρω = durchbohren).

Die in den Außenketten und im südlichen Vorland der Westpyrenäen zutage tretenden Diapire werden seit mehreren Jahren vom Geologischen Institut der Universität Bonn aus untersucht. Während die Arbeiten von Pflug (Diapir von Estella), Hempel (Poza de la Sal), v. Stackelberg (Murguia) vorzugsweise die Tektonik der Diapire und die sie aufbauenden triadischen Gesteine behandeln, haben meine Untersuchungen die Strukturgeschichte der Diapire der Provinzen Alava und Navarra sowie Beobachtungen über Fazies und Mächtigkeiten der sie umgebenden alttertiären Schichten zum Thema.

Zunächst wurde das Gebiet zwischen Miranda de Ebro im W und Pamplona im E im Maßstab 1:50000 kartiert. Die für die wechselvolle Geschichte der Diapire interessanten Alttertiär-Ablagerungen mit ihren Fazies- und Mächtigkeitsänderungen wurden außerdem durch Spezialkartierungen der Diapirränder Peñacerrada, Maestu, Alloz, Salinas de Oro, Ollo und Anoz in größerem Maßstab erfaßt. Ausgehend von diesen durch zahlreiche Einzelprofile ergänzten Unterlagen konnten Fazies- und Mächtigkeitskarten entworfen werden, wobei die von Mangin[1]) benutzte und von Schaub und Hottinger[2]) ergänzte Stufenfolge Verwendung fand.

Die ersten Anzeichen intensiver Diapirtätigkeit sind in der Struktur von Alloz bereits in der Unterkreide sichtbar. Während sich bei allen anderen Diapiren deutliche Beweise eines Aufstiegs und Durchbruchs erst zu späterer Zeit finden lassen, hatte hier das Salinar schon frühzeitig sein Deckgebirge durchstoßen und schüttete Triasmaterial in die unmittelbare Umgebung.

Während des kontinuierlichen langsamen Aufstiegs der Diapire kam es in einer mehrere hundert Meter breiten Randzone der Strukturen zur Ablagerung einer vergleichsweise geringer mächtigen Schichtfolge (nördlich Maestu, nordwestlich Anoz). Kräftigere Bewegungen des Salinars führten zu Schichtlücken, Winkeldiskordanzen und Konglomeraten, die überwiegend auf die Randgebiete der Diapire beschränkt sind. In Annäherung an die Diapire ändern sich die Fazies nicht wesentlich.

Nach dem ersten Durchbruch des Salinars durch die posttriadischen Schichten wechselten Phasen ruhiger und lebhafter Diapirtätigkeit miteinander ab, unterbrochen durch Ruhezeiten, in denen es zur völligen Wiedereindeckung der Salinarkörper kam. Während der langen Zeit ihres Bestehens haben die Diapire Form und Größe ständig geändert. Außerdem verlagerten sich die aktiven Zentren der Diapire (z. B. in der Struktur Alloz nach S und im Diapir Maestu nach N).

Die Tabelle (Fig. 1) zeigt eine gedrängte Übersicht über die Strukturgeschichte der Diapire, die sich aus der Beschaffenheit und Lagerung der Sedimente ihrer Randzonen recht genau ablesen läßt. Hier sei nur die Geschichte des Diapirs Anoz umrissen.

Im Bereich dieser Struktur wurde über geringmächtigem Maastricht eine einheitliche Folge von unterem und mittlerem Paleozän abgelagert. Gegen Ende des Paleozäns zerbrach die Schichtplatte an der Stelle, an der sich heute der Diapir befindet. Dabei aufreißende Spalten im Paleozänkalk füllten sich mit Keuperschlamm und verheilten. Das Salinar hatte sein Deckgebirge durchbrochen und lag offen. Am Diapirrand begann eine Aufrichtung der Schichten. In der darauffolgenden Zeit wurden lokal Bruchstücke des mit Keuperschlamm verkitteten Paleozäns zusammen mit Keupermaterial abgelagert. Im oberen Mitteleozän erreichte die Diapirtätigkeit einen Höhepunkt. Keuperton mit bis zu 40 m großen Paleozänblöcken glitt über die Diapirränder. Bis zur Wende Mittel-Obereozän ergossen sich noch mehrere kleine Schlammströme aus Triasmaterial in das umgebende Sediment. Dann endete die Diapirtätigkeit, und die Struktur wurde von Sedimenten zugedeckt. In der nächsten Salinar-Aufstiegsphase, die vermutlich mit einer oligozänen Faltung zusammenhing, wurden die eozänen Schichten überkippt und von Keuper überschoben.

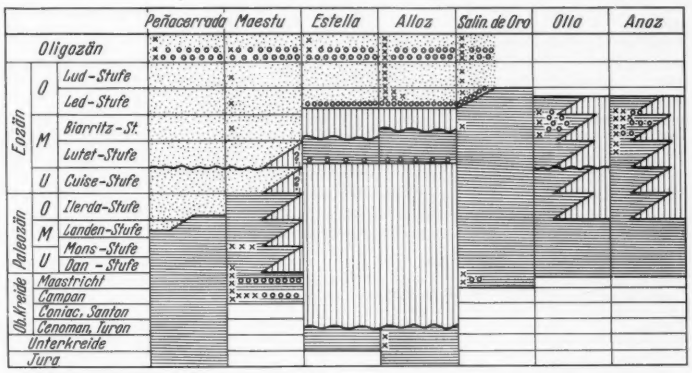


Fig. 1. Schichten in der Umgebung der Diapire. marin, terrestrisch, auskeilend, fehlend, mit Diapirmaterial, × Konglomerat, o Winkeldiskordanz

In späterer Zeit hat sich die Gestalt des Diapirs nicht mehr wesentlich geändert.

An anderer Stelle wird über Diapirismus und Alttertiär im spanischen Baskenland ausführlich berichtet werden.

Bonn, Geologisch-Paläontologisches Institut der Universität

Hans-Dieter Kind

Eingegangen am 5. Mai 1961

[1]) Mangin, J. P.: Diss., Dijon 1959. — [2]) Schaub, H., u. L. Hottinger: Eclogae [Basel] **53**, 1 (1960).

On the Infrared Spectrum of cis-Stilbene

Seven years ago we observed[1]) that the ~3·30 μ CH stretching band in the stilbene spectrum appears in the case of *cis*-stilbene in a split form with maxima at 3·32 μ and 3·46 μ. In a recent issue of Die Naturwissenschaften STEGEMEYER[2]) has described some pertinent, new experiments on the basis of which it is claimed that the appearance of the 3·46 μ (~2900 cm⁻¹) band was due to a contamination of our sample by photochemically formed tetraphenylcyclobutane. Although our preparation had undergone careful chromatographic check both before and after the readings, and although the separation of stilbene from tetrahydrocyclobutane would very probably be an easy task, we are glad to concede that this field needs re-investigation and that STEGEMEYER's data may well be valid. We are unable, however, to accept the following statement which the author attributes to us: „Diese Aufspaltung der Valenzschwingungsbande ... soll für eine *cis*-Konfiguration charakteristisch sein." Our evaluation of the significance of this band was indeed quite different (p. 1424): "In the general region of CH stretching frequencies there occurs a medium intensity band located at ~3·30 μ; it undergoes splitting when some *cis* configurations are assumed but this band did not give us a sufficient basis for stereochemical conclusions." Neither was this band mentioned in our Table 1 (p. 1429), entitled "Stereochemically significant infrared bands ...".

University of Oslo K. LUNDE

California Institute of Technology, Pasadena, Cal. L. ZECHMEISTER

Eingegangen am 27. Mai 1961

[1]) LUNDE, K., and L. ZECHMEISTER: Acta chem. scand. **8**, 1421 (1954). — [2]) STEGEMEYER, H.: Naturwissenschaften **48**, 128 (1961).

Infrarotspektroskopischer Nachweis des Arsonium-Ions

Die Tieftemperatur-Infrarotspektroskopie gestattet es, Komplexe und Verbindungen nachzuweisen, die bei Zimmertemperatur nicht beständig sind. Im Rahmen einer Arbeit über die IR-Absorption der Hydride von Elementen der 5. Hauptgruppe im festen Zustand wurde festgestellt, daß den Ammonium- und Phosphonium-Salzen analoge Arsoniumverbindungen bei tiefen Temperaturen existieren.

Zunächst wurden die reinen Hydride auf einer auf 110° K gekühlten NaCl-Platte kondensiert und ihre Absorption im Bereich von 1 bis 15 μ gemessen. Anschließend wurden Gasgemische XH_3/YH im Verhältnis 1:1 kondensiert (X = N, P, As, Sb; Y = Cl, Br, J) und bei Temperaturen zwischen 110° K und 230° K IR-spektroskopisch untersucht. Bei langsamer Temperaturerhöhung verschwanden die Banden der Ausgangssubstanzen bei den Systemen PH_3/HCl, HBr, HJ und AsH_3/HBr, HJ vollständig. An ihre Stelle traten neue, intensive Absorptionsbanden, die den P^+H_4- und As^+H_4-Ionen zugeordnet wurden. Wegen der Erniedrigung der Symmetrie T_d des Ions X^+H_4 im Kristallgitter treten Aufspaltungen der Eigenschwingungen $\nu_3 = \nu(a)$ und $\nu_4 = \delta(a)$ auf.

Beim System AsH_3/HCl blieben die ursprünglichen Banden erhalten, lediglich die Schwingung des HCl wurde beträchtlich längerwellig. Daraus wird auf starke Wasserstoffbrückenbindung $H_3As \ldots HCl$ geschlossen. Bei den Systemen SbH_3/HY wurde keine Veränderung der Spektren der Ausgangssubstanzen festgestellt. Die Tabellen 1 und 2 enthalten die gemessenen Absorptionsbanden der Hydride XH_3 im festen und gasförmigen Zustand sowie die der Oniumverbindungen $X^+H_4Y^-$. Soweit Messungen anderer Autoren wiederholt wurden, stimmen deren Ergebnisse[1–5]) mit denen dieser Arbeit innerhalb der Fehlergrenzen überein.

Tabelle 1. *Eigenschwingungen der Hydride von Elementen der 5. Hauptgruppe im gasförmigen und festen Zustand bei 110° K* (in cm⁻¹)

Schwgg.[a])		$\nu_1 = \nu(\pi)$. $[A_1]$		$\nu_2 = \delta(\pi)$. $[A_1]$		$\nu_4 = \delta(\sigma)$. $[E]$
NH_3	g[b])	3344 ± 22		931 ± 2 964 ± 2		1620 ± 6
	f		(3412 ± 23)		1057 ± 2 1104 ± 2	1642 ± 6
PH_3	g	2309 ± 10		990 ± 2		1122 ± 2
	f[c])		2257 ± 10		978 ± 2	1098 ± 2
AsH_3	g	2114 ± 9		905 ± 2		1001 ± 2
	f[c])		2092 ± 9		894 ± 2	979 ± 2
SbH_3	g	1887 ± 8		778 ± 1		833 ± 1
	f[c])		1843 ± 7		769 ± 1	812 ± 1

a) Bezeichnung der Schwingung und der Symmetrie. Die Schwingung $\nu_3 = \nu(\sigma)$ (Symmetrie E) wurde nur bei NH_3 gasförmig zu (3448 ± 23) gemessen.
b) g = gasförmig, f = fest.
c) Erstmalig vermessen.

Tabelle 2. *Die infrarotaktiven Eigenschwingungen $\nu_3 = \nu(a)$ und $\nu_4 = \delta(a)$ der Ionen X^+H_4 in den Verbindungen $X^+H_4Y^-$* (in cm⁻¹)

ν_3	N^+H_4*)	P^+H_4	As^+H_4	ν_4	N^+H_4*)	P^+H_4	As^+H_4
Cl^-	3132 3041	2427 ± 12 2398 ± 11	—	Cl^-	1397	998 ± 2 967 ± 2	— —
Br^-	3122 3025	2421 ± 11 2392 ± 11	2262 ± 10 2237 ± 10 2165 ± 10	Br^-	1407 1430	979 ± 2 953 ± 2	854 ± 2 848 ± 1 835 ± 1
J^-	3070 3017	2370 ± 11 2273 ± 10	2174 ± 10 2151 ± 10 (2342 ± 11)	J^-	1397 1424	955 ± 2 935 ± 2	847 ± 1 842 ± 1 820 ± 1

*) Die Werte der Ammoniumhalogenide stammen von L. F. H. BOVEY: J. Chem. Physics **18**, 1684 (1950).

Herrn Professor Dr. R. SUHRMANN und Herrn Priv.-Doz. Dr. G. WEDLER danke ich für viele wertvolle Ratschläge und ständige Förderung dieser Arbeit.

Institut für Physikalische Chemie und Elektrochemie der Technischen Hochschule, Hannover

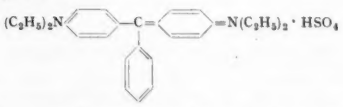
A. HEINEMANN

Eingegangen am 21. Juni 1961

[1]) MCKEAN, D. C., u. P. N. SCHATZ: J. Chem. Physics **24**, 316 (1956). — [2]) REDING, F. P., u. D. F. HORNIG: J. Chem. Physics **19**, 594 (1951). — [3]) MCCONAGHIE, V. M., u. H. H. NIELSEN: J. Chem. Physics **21**, 1836 (1953). — [4]) HAYNIE, W. H., u. H. H. NIELSEN: J. Chem. Physics **21**, 1839 (1953). — [5]) MARTINEZ, J. V., u. E. L. WAGNER: J. Chem. Physics **27**, 1110 (1957).

Spectrophotometric Studies on Kinetics of Decomposition of Brilliant Green in Acid Medium

Brilliant green (B. G.), 4,4′-bisdiethyl amino triphenyl methyl sulphate



is a dye of triphenyl methane series, with characteristic green colour and possesses marked chemical and biological activity[1,2]). It is used for colourimetric estimation of Tl, Au and Sb in acid medium[3],[4]). It, however, undergoes chemical change in acid medium leading to the disappearance of its characteristic colour. No data exist in the literature on the mechanism of this reaction. The present communication reports spectrophotometric studies on kinetics of this reaction.

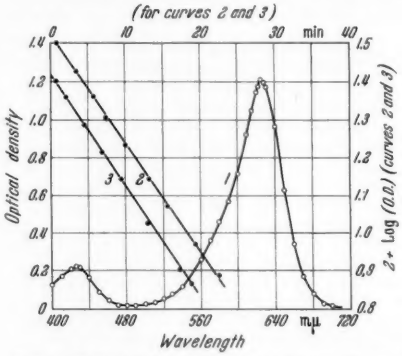


Fig. 1. Optical density of Brilliant Green. See text

B. G. purified according to LEWIS, MAGEL and LIPKIN[5]) was used. The kinetic runs were carried out in paraffined flasks in order to avoid the loss of B. G. due to adsorption. Beckman spectrophotometer (DU) was used for optical density measurements.

Fig. 1 gives typical series of results representing the characteristic absorption spectrum of B.G., which exhibits absorption maxima at $\lambda = 625$ and 426 mμ. λ_{max} were independent of p_H (2—10); BEER's law was found to be applicable; $\varepsilon_{625} = 8{\cdot}00 \times 10^4$ litre mole^{-1} cm^{-1} and $\varepsilon_{426} = 1{\cdot}4 \times 10^4$ litre mole^{-1} cm^{-1}.

Curves *2* and *3*, Fig. 1 give typical kinetic data on the decay of colour of B.G. at $\lambda = 625$ and 426 mμ respectively at $p_H = 2{\cdot}48$ ($C_{B.G.} = 0{\cdot}8 \times 10^{-5}$ M for curve *1* and $2{\cdot}4 \times 10^{-5}$ M for curve *2*). Similar results were obtained with buffered and unbuffered acid solutions. Data in Fig. 1 suggest that reaction was first order in nature with respect to B. G. The rate constant in HCl solutions was obtained from

$$k = \frac{2{\cdot}303\,(\Delta \log C_{BG})\ \text{litres}}{(\Delta T)\,C_H^+\ \text{mole min.}}\,.$$

k corresponded to 14·60 litre mole^{-1} min^{-1} at $25{\cdot}0 \pm 0{\cdot}05°$ C. k was, however, independent of the ionic strength of the system, which was varied from 0·1 to 1·2 suggesting thereby that the rate determining step of the reaction involves uncharged species. The fuller mechanism will be discussed elsewhere.

Thanks are due to Dr. N. A. RAMAIAH, Head of the Physical Chemistry Department for his kind interest and valuable discussions and to Scientific Research Committee, U.P. for a maintenance grant.

Department of Physical Chemistry, National Sugar Institute, Kanpur, India

SARVAGYA S. KATIYAR

Eingegangen am 23. Mai 1961

[1]) GOLDACRE, R. J., and J. N. PHILLIPS: J. Chem. Soc. [London] **1949**, 1724. — [2]) DESAI, C. M., and B. K. VAIDYA: J. Indian Chem. Soc. **31**, 389 (1954). — [3]) VOSKRESENSKAYA, N. T.: Zh. Anal. Khim. **11**, 585 (1956). — [4]) LAPIN, L. N., and V. O. GEIN: Trudy Komissii. Anal. Khim., Akad. Nauk S.S.S.R. Inst. Geokhim i Anal. Khim. **7**, 217 (1956). — [5]) LEWIS, G. N., T. T. MAGEL and D. LIPKIN: J. Amer. Chem. Soc. **64**, 1774 (1942).

Über die strahlungschemische Oxydation der Schwefligen Säure

Im Verlauf strahlungschemischer Arbeiten in wäßriger Lösung untersuchten wir die strahlungschemische Oxydation der Schwefligen Säure, über die bisher nur qualitative Aussagen vorliegen[1]).

Zur Herstellung der Untersuchungslösung leiteten wir einen Strom von Schwefeldioxid und Sauerstoff konstanter

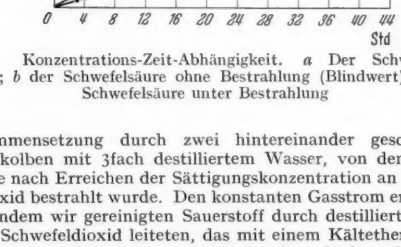


Fig. 1. Konzentrations-Zeit-Abhängigkeit. *a* Der Schwefligen Säure; *b* der Schwefelsäure ohne Bestrahlung (Blindwert); *c* der Schwefelsäure unter Bestrahlung

Zusammensetzung durch zwei hintereinander geschaltete Rundkolben mit 3fach destilliertem Wasser, von denen der zweite nach Erreichen der Sättigungskonzentration an Schwefeldioxid bestrahlt wurde. Den konstanten Gasstrom erhielten wir, indem wir gereinigten Sauerstoff durch destilliertes flüssiges Schwefeldioxid leiteten, das mit einem Kältethermostaten auf einer Temperatur unterhalb seines Siedepunktes gehalten wurde. Als Strahlenquelle diente eine Röntgenanlage TuR 200/20, die mit 180 kV, 15 mA betrieben wurde.

Von der bestrahlten und unbestrahlten Lösung nahmen wir in Abständen von mehreren Stunden Proben und bestimmten das Schwefeldioxid jodometrisch und die Schwefelsäure nach Verkochen des Schwefeldioxids mit Überchlorsäure durch Titration mit n/10 Bariumperchlorat unter Verwendung von Thorin als Indikator[2]). Die erhaltenen Ergebnisse zeigt Fig. 1. Bei den Schwefelsäurewerten sind die bei Bestrahlungsbeginn vorhandenen Schwefelsäuremengen abgezogen.

Die Dosisleistung der Bestrahlungsanlage wurde mit dem Fricke-Dosimeter bestimmt. Bei Verwendung eines *G*-Wertes von $16{,}2 \pm 0{,}8$ für die Eisen(II)-oxydation[3]) ergab sich eine mittlere Dosisleistung von $2{,}73 \cdot 10^{16}$ eV/min · ml. Für die Compton-Absorption und die photoelektrische Absorption der gelösten Stoffe wurden Korrekturen nach LEA angebracht[4]). Der berechnete *G*-Wert der reinen strahlungschemischen Bildung von Schwefelsäure liegt für eine etwa 0,7 molare Schweflige Säure überraschend hoch bei 205 ± 12. Die Fehlerbreite ist durch die Unsicherheit der Absorption der Compton-Streuphotonen gegeben. In der bestrahlten wie der unbestrahlten Endlösung ließ sich eine kleine Menge Dithionsäure (< 0,5 mg/ml) bestimmen.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Institut für anorganische Chemie der Bergakademie, Freiberg

RICHARD SCHRADER und SIEGFRIED SCHÖNHERR

Eingegangen am 29. Mai 1961

[1]) CHAMBERLAIN, K.: Physic. Rev. **26**, 525 (1925). — Chem. Engng. News **31**, 1310 (1953). — [2]) FRITZ, J. S., u. M. Q. FREELAND: Analyt. Chem. **26**, 1593—95 (1954). — [3]) FARMER, E. F., T. RIGG u. J. WEISS: J. chem. Soc. 1954, 3248—49. — [4]) LEA, D. E.: Actions of Radiations on Living Cells. Cambridge: University Press 1956.

Neue Möglichkeiten der kolorimetrischen Bestimmung von dreiwertigem Chrom

Neue Farbreaktion der Chrom(III)-Ionen wurde bei der systematischen Untersuchung der Eigenschaften und der analytischen Benützung von Chromazurol S gefunden[1]),[2]). Die Bildung von violett-rot gefärbtem Chelat verläuft in schwach saurem Medium am besten in verdünnter Essigsäure. Bei erhöhter Temperatur bildet sich die Färbung fast augenblicklich, während bei Zimmertemperatur die Reaktion sehr langsam vor sich geht, wahrscheinlich wegen der starken Hydratation von Chrom(III)-Ionen. Vorläufig wurde gefunden, daß die entstehende violett-rote Färbung das Absorptionsmaximum bei der Wellenlänge $\lambda_{max} = 555$ mμ hat, wenn die Azidität der Lösung im p_H-Bereich von 3,6 bis 3,7 liegt. Das Lambert-Beersche Gesetz gilt in Konzentrationsgrenzen von 0 bis 46 μg von dreiwertigem Chrom in einem Volumen von 50,0 ml.

Unter denselben Bedingungen geben ähnliche Farbreaktionen mit Chrom(III)-Ionen noch Eriochromcyanin R (violett-rote Färbung; $\lambda_{max} = 550$ mμ), Xylenolorange (rote Färbung; $\lambda_{max} = 490$ μm) und Thorin (rote Färbung; $\lambda_{max} = 500$ μm). All die neu beschriebenen Farbreaktionen kann man zur kolorimetrischen Bestimmung von dreiwertigem Chrom benützen. Nähere Reaktionsbedingungen sowie erhaltene Ergebnisse werden später veröffentlicht werden.

Der Autor möchte gerne der Firma J. R. Geigy, Basel, Schweiz für das gefällige Überlassen von Chromazurol S und Eriochromcyanin R seinen besten Dank aussprechen.

Lehrstuhl für analytische Chemie, Naturwissenschaftliche Fakultät der Karls-Universität, Albertov 2030, Praha 2, ČSSR

M. MALÁT

Eingegangen am 27. Mai 1961

[1]) MALÁT, M., u. M. TENOROVÁ: Collection Czechoslov. Chem. Communs. **24**, 632 (1959). — [2]) MALÁT, M.: Anal. Chim. Acta (im Druck).

Dünnschichtchromatographische Schnellanalyse bei enzymatischen Steroid-Umsetzungen

Die Chromatographie an dünnen Schichten eines geeigneten Adsorbens hat nach der von STAHL[1]),[2]),[3]) eingeführten Methodik[4]) erhebliche Vorteile bei der Überwachung enzymatischer Umsetzungen. Solche Umsetzungen erlangten in der Steroid-Chemie besondere Bedeutung, weil einige wesentliche Reaktionen — wie die Einführung bestimmter Hydroxylgruppen oder Doppelbindungen — den entsprechenden präparativen Methoden augenblicklich überlegen sind. — In der Regel wird das Steroid der Kultur eines geeigneten Mikroorganismus zugesetzt und nach vollständiger Umsetzung rückisoliert. Genaue Überwachung der Reaktion ist wichtig, um die Bildung unerwünschter Neben- oder Folgeprodukte verhindern zu können. Da die erwünschte Reaktion oft den Abbau der Steroidmolekel einleitet, kann zu lange Einwirkung der Mikroorganismen zu Substanzverlusten führen; zu früher Abbruch bringt dagegen Schwierigkeiten bei der Isolierung des reinen Produktes.

Bisher zum Verfolgen der Umsetzung eingesetzte Methoden erfordern lange Zeiten (Papierchromatographie) oder relativ viel gut aufgereinigte Substanz (UV- und IR-Photometrie,

Polarographie). Ein Dünnschichtchromatogramm zeigt dagegen nach 30 bis 80 min gute Trennung von Ausgangsmaterial, Umsatzprodukt und Nebenprodukten. Es ist halbquantitativer Auswertung bei geringem Substanzverbrauch (5 bis 50 γ) gut zugänglich; Störungen durch Nebenprodukte oder Begleitstoffe treten fast nicht auf, und die geringen Ansprüche an Temperaturkonstanz und Platzbedarf sind bemerkenswert.

Seit über $1^1/_2$ Jahren verwenden wir die Dünnschichtchromatographie in großem Umfang routinemäßig zur Überwachung von Steroid-Fermentationen. Die Steroide liegen meist in etwa 0,05%iger Lösung bzw. Suspension in der wäßrigen Bakterien- oder Pilzkultur vor; Proben von 100 bis 200 ml werden z.B. 3mal mit dem gleichen Volumen Chloroform extrahiert, abgedampft und etwa 50 γ des Rückstandes in 2 bis 4 mm^3 Aceton auf die Dünnschichtplatte aufgetragen. Wenn nur sehr wenig Material zur Verfügung steht (z.B. aus Schüttelkolben) oder besonders schnelle Ergebnisse erwünscht sind, werden 2 ml der Mikroorganismenkultur mit 4 ml Chloroform im Reagenzglas ausgeschüttelt. Die erforderliche Steroidmenge ist dann in etwa 0,2 ml Chloroform gelöst; um die Dünnschicht mit möglichst wenig Lösungsmittel zu belasten, wird auf Papier eingeengt. Dazu werden z.B. 0,2 ml des Chloroformextraktes im Luftstrom auf Chromatographiepapier zu einem Flecken von etwa 10 mm ⌀ aufgetragen, das Papier nach Schablone (Fig. 1a) zungenförmig ausgeschnitten und mit der Unterkante in ein etwa 5 mm hoch mit Aceton gefülltes Glas gestellt. Mit der Lösungsmittelfront steigt das Steroid in die Zunge auf; sowie die Spitze erreicht ist, wird das Papier getrocknet und der gleiche Vorgang wiederholt. Die umgebogene Zunge (Fig. 1b) wird dann auf den Startpunkt der Dünnschicht aufgesetzt und das Steroid durch vorsichtiges Auftropfen von Aceton so auf die Platte übergeführt, daß ein Startfleck von etwa 3 mm ⌀ entsteht. Als Elutionsmittel für Steroide haben sich auf Kieselgel-Platten (Kieselgel G für Dünnschichtchromatographie nach Stahl „Merck")[4] Chloroform-Aceton-Gemische 3:2 bis 6:1 (gelegentlich bis 1:2 und 30:1) besonders bewährt und bei vielen verschiedenen Verbindungen aus der Androstan- und der Pregnanreihe sehr gute Trennungen erzielt; auch Butylacetat und Äthylacetat sind oft geeignet.

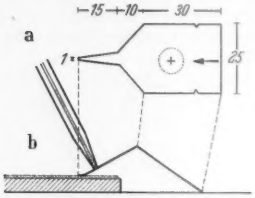


Fig. 1. a Zuschnitt des Papieres zum Übertragen auf die Dünnschicht. b Der gleiche Zuschnitt von der Seite während des Übertragens

Als Sprühreagenz bevorzugen wir Vanillin-Phosphorsäure[5] (1% Vanillin in 50%iger H_3PO_4, 10 bis 20 min 120° C), daneben bewährten sich besonders Anisaldehyd-Schwefelsäure[6] (1 Vol-% Anisaldehyd und 2 Vol-% konz. H_2SO_4 in Eisessig, 6 min 120° C), Antimontrichlorid[1],[6] (gesättigte Lösung in Chloroform, 10 min 120° C, UV) und Phosphorsäure[6] (50%, 10 bis 20 min 120° C, UV). Bei diesen Reagenzien erleichtern die verschiedenen Farben die Beurteilung, während für quantitative Vergleiche einfarbige Farbflecke bevorzugt werden, z.B. 2%ige Perchlorsäure (10 min 150° C) oder für reduzierende Corticosteroide 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (4% TTC in Methanol + 4% NaOH in Methanol zu gleichen Teilen mischen). — Die Dokumentation erfolgt photographisch mit der Kleinbildkamera.

Die sehr schnelle und gute Auftrennung von Steroid-Gemischen ist nicht nur für mikrobiologische Umsetzungen, sondern auch für präparative und klinische Labors interessant; andererseits dürfte die Dünnschichtchromatographie bei der schnellen Erfassung von Stoffwechselprodukten in Mikroorganismenkulturen gute Dienste leisten, zumal sie auch für stärker polare Stoffe[7] anwendbar ist und keine zeitraubende Aufreinigung des Analysenmaterials erfordert.

Forschungslaboratorium der E. Merck AG, Darmstadt

HARALD METZ

Eingegangen am 17. März 1961

[1]) STAHL, E.: Chemiker-Ztg. **82**, 323 (1958). — [2]) STAHL, E.: Arch. Pharmaz. **292**, 411 (1959). — [3]) STAHL, E.: Pharmaz. Rdsch. **1**, H. 2, 1 (1959). — [4]) Dünnschicht-Chromatographie, Druckschrift E. Merck A.G., Darmstadt, 1960. — [5]) Modifiziert nach MCALEER, W. J., u. M. KOZLOWSKI: Arch. Biochem. Biophys. **62**, 196 (1956). — [6]) NEHER, R., u. A. WETTSTEIN: Helv. chim. Acta **34**, 2278 (1951). — [7]) MUTSCHLER, E., u. H. ROCHELMEYER: Arch. Pharmaz. **292**, 449 (1959).

Über Diacetylen-Verbindungen der aromatisch substituierten Elemente Ge, Sn, Pb und Sb

Durch Umsetzung von Triphenylzinnchlorid, Triphenylbleibromid und Diphenylstibinchlorid mit Dinatriumdiacetylid in flüssigem Ammoniak wurden die entsprechenden Diacetylen-Disubstitutionsprodukte erhalten. Das Triphenylgermaniumbromid wurde in Tetrahydrofuran mit Dinatriumdiacetylid zu der Verbindung I umgesetzt, da es in flüssigem Ammoniak leicht ammonolysiert wird. Dinatriumdiacetylid[1]) wurde aus 1,4-Dichlorbutin-2 und Natriumamid in flüssigem Ammoniak hergestellt. Die Verbindung I läßt sich auch durch Umsetzung von Triphenylgermanium-natrium mit Dijoddiacetylen in Äther gewinnen.

I	$(C_6H_5)_3Ge-C\equiv C-C\equiv C-Ge(C_6H_5)_3$	Fp 294° C
II	$(C_6H_5)_3Sn-C\equiv C-C\equiv C-Sn(C_6H_5)_3$	Fp 245° C (Zers.)
III	$(C_6H_5)_3Pb-C\equiv C-C\equiv C-Pb(C_6H_5)_3$	Fp 187° C (Zers.)
IV	$(C_6H_5)_2Sb-C\equiv C-C\equiv C-Sb(C_6H_5)_2$	Fp 154° C (Zers.)

Es sind gut kristallisierende, luft- und feuchtigkeitsunempfindliche Substanzen. Die Ultrarotspektren der in Chloroform gelösten Verbindungen zeigen unter anderem eine intensive C≡C-Valenzschwingung im Bereich von 2030 bis 2050 cm^{-1}.

Institut für Anorganische Chemie der Technischen Hochschule, Braunschweig

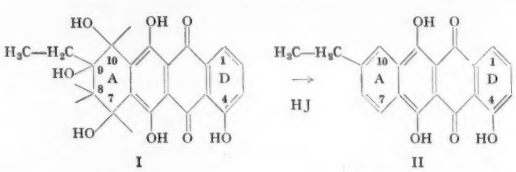
H. HARTMANN, E. DIETZ, K. KOMORNICZYK und W. REISS

Eingegangen am 7. Juni 1961

[1]) ARMITAGE, J.B., E.R.H. JONES u. M.C. WHITING: J. Chem. Soc. [London] **1951**, 44.

Zur Konstitution des β- und γ-Rhodomycinons

Der rote Streptomycetenfarbstoff β-Rhodomycinon[1]) hat, wie folgende Befunde zeigen, die Konstitution I oder Ia. β-Rhodomycinon liefert beim Kochen mit Jodwasserstoffsäure das „β-Rhodomycinon-HJ-Produkt"[2]), das mit Descarbomethoxy-bis-anhydro-ε-rhodomycinon[3b]) identisch[3a]) und daher nach II oder IIa zu formulieren ist. Bei dieser Reaktion wird Ring A des β-Rhodomycinons unter Abspaltung von drei Hydroxygruppen aromatisiert. Verwendet man konz. Salzsäure statt Jodwasserstoffsäure, so entsteht ein kristallisiertes, braunrotes Hydroxytetracenchinon $C_{20}H_{14}O_6$, das bei 252 bis 256° schmilzt. Es unterscheidet sich vom „β-Rhodomycinon-HJ-Produkt" (II bzw. IIa) dadurch, daß an C-7 oder C-10 seines Ringes A eine Hydroxygruppe steht.



Ia OH an C-1, H an C-4
Ib OH an C-7 = H
Ic OH an C-7 = H; OH an C-1, H an C-4

IIa OH an C-1, H an C-4

Acetanhydrid-Pyridin verwandelt β-Rhodomycinon in ein gelbes, optisch aktives Pentaacetat mit einer IR-Bande bei 2,79 μ[4]). Sie muß der tertiären OH-Gruppe an C-9 zugeordnet werden, die auch dafür verantwortlich ist, daß bei der Permanganat-Oxydation des β-Rhodomycinons leicht Propionsäure entsteht[1]).

Durch katalytische Hydrierung läßt sich β-Rhodomycinon in γ-Rhodomycinon überführen[2]). Dabei wird lediglich eine nicht phenolische Hydroxygruppe des β-Rhodomycinons durch Wasserstoff ersetzt. Diese Hydroxygruppe ist α-ständig zum Anthrachinon-Ringsystem, denn die beiden langwelligen Absorptionsmaxima des γ-Rhodomycinons liegen in Piperidin um 10 bzw. 8 mμ kürzerwellig als die des β-Rhodomycinons.

Stände die durch Hydrierung abspaltbare Hydroxygruppe des β-Rhodomycinons an C-10 (I bzw. Ia), so hätten die beiden in Ring A an C-7 und C-9 verbleibenden Hydroxygruppen die gleiche Anordnung wie die beiden OH-Gruppen in Ring A des ε-Rhodomycinons[3b]), und γ-Rhodomycinon müßte dann gegen Perjodsäure ebenso indifferent sein wie ε-Rhodomycinon. Da γ-Rhodomycinon jedoch von Perjodsäure relativ leicht oxydiert wird, muß bei der hydrogenolytischen Überführung von β-Rhodomycinon in γ-Rhodomycinon die an C-7 stehende

OH-Gruppe des β-Rhodomycinons abgespalten werden und γ-Rhodomycinon dementsprechend die Konstitution Ib oder Ic haben.

Die chemischen Befunde werden durch das in Trifluoressigsäure gemessene KMR-Spektrum des β- und γ-Rhodomycinons bestätigt[6]). τ-Werte (relative Intensitäten in Klammern): β-Rhodomycinon 8,73 (3), 7,93 (2) (Äthylgruppe); 7,50 (2) (CH_2-Gruppe in Ring A, nicht benachbart zum Anthrachinon-Ringsystem); 4,67 (1) Singulett (einzelnes Proton an C-10); 4,48 (1) Multiplett (einzelnes Proton an C-7); 2,60 (1), 2,22 (1), 2,12 (1) (drei Protonen an Ring D). γ-Rhodomycinon 8,75 (3), 7,83 (2) (Äthylgruppe); 7,59 (2) (CH_2-Gruppe in Ring A, nicht benachbart zum Anthrachinon-Ringsystem); 6,97 (2) (CH_2-Gruppe in Nachbarstellung zum Anthrachinon-Ringsystem); 4,70 (1) (einzelnes Proton an C-10); 2,59 (1), 2,22 (2) (drei Protonen an Ring D).

Organisch-Chemisches Institut der Universität, Göttingen

HANS BROCKMANN und JÜRGEN NIEMEYER

Eingegangen am 29. Juli 1961

[1]) BROCKMANN, H., u. B. FRANCK: Chem. Ber. **88**, 1792 (1955). — [2]) BROCKMANN, H., u. P. BOLDT: Naturwissenschaften **44**, 616 (1957). [3]) BROCKMANN, H., u. H. BROCKMANN jr.: a) Chem. Ber. **94** (1961); — b) Naturwissenschaften **48**, 161 (1961). — [4]) BOLDT, P.: Unveröffentlicht. — [5]) Diese Messungen verdanken wir Herrn Dr. A. MELERA, Varian AG, Zürich.

The Acidic Dissociation Constants of Mandelic Acid

Recently we have determined the acidic dissociation constants of alcoholic hydroxyls of mandelic[1]) and tartaric[2]) acids. The importance of the knowledge of these constants and the difficulties of their determination were pointed out. The origin of these difficulties is the condition that the hydroxycarboxylic acid contain both strongly and very weakly acidic groups. It is not so easy to measure the change of a property as a function of p_H as in the case of other compounds, namely the hydroxycarboxylic acids have no absorbancy—in general—even in the u.v. The mandelic acid is an exception—due to its benzene ring—and it was utilized for that purpose. Many hydroxycarboxylic acids contain anasymmetric carbon atom, so the measurement of optical rotatory power as a function of p_H may give information on the acidic dissociation constants of their alcoholic hydroxyls. Previously the tartaric acid was subjected for such a study. Similar experiments were done for mandelic acid, too.

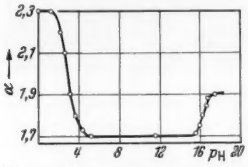


Fig. 1. The optical rotatory power of mandelic acid as a function of p_H

The optical rotatory power of 0·05 mole/l mandelic acid solution was determined as a function of p_H between p_H 0 and 17·5. The solution were acidified with $HClO_4$ and alkalized with NaOH. In the calculations p_H values determined by SCHWARZENBACH and SULZBERGER[3]) were used instead of NaOH concentration. The optical rotation was determined with "Zeiss Polarimeter" at Na_D using 2 dm cuvette. The optical rotation as a function of p_H is plotted in Fig. 1.

Between p_H 1 and 5 there is a considerable decrease of rotation—from 2,3° to 1·7°—which evidently must be attributed to the ionization of the carboxylic group. The value of pK_1 is 2·85. Between p_H 5 and 15 the value of rotation does not change, but steeply increases at p_H 15 and seems to reach a limiting value over p_H 17,5. The second jump can be attributed most probably to the ionization of the alcoholic hydroxyl and supposing it the value of pK_2 is 16·25, in contrast to the value (15·15) obtained spectrophotometrically[1]).

The reliability of the pK_2 may be questioned because of the following facts: It is not possible to work with solutions of constant ionic strength due to the limited solubilities of neutral salt expecially in the rather concentrated NaOH solution. The dielectric constant of the solutions differs from that of the pure water or the dilute electrolyte solution. The concentration of free water changes considerably.

Nevertheless the obtained value can be regarded semiquantitatively correct at least, especially comparing it to the dissociation constants of alcohols, and helps to understand the behaviour of its metal complexes.

Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, Kossuth L. University, Debrecen

B. CSISZÁR

Institute of Organic Chemistry

M. HALMOS

Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Szeged, Hungary

M. T. BECK

Eingegangen am 10. Juni 1961

[1]) BECK, M.T., and M. HALMOS: Nature [London] **186**, 388 (1960). — [2]) BECK, M.T., B. CSISZÁR and P. SZARVAS: Nature [London] **188**, 846 (1960). — [3]) SCHWARZENBACH, G., and R. SULZBERGER: Helv. chim. Acta **37**, 348 (1944).

Eine Grenztemperatur beim strahlenchemisch-thermischen Kracken von Paraffin

Die Paraffinspaltung durch ionisierende Strahlen (Verfahren 1) zeigt in verschiedenen Temperaturbereichen unterschiedliche, typische Reaktionsabläufe. Diese lassen sich durch das Methan/Wasserstoff-Verhältnis ihrer gasförmigen Produkte charakterisieren und mit den thermischen Krackprozessen (Verfahren 2) vergleichen.

Die gasförmigen Spaltprodukte von Verfahren 2 (Kracktemperaturen 400 bis 550°) enthalten nur etwa 2 bis 10% Wassertoff[1]). Zusätzliche Bestrahlung im Bereich der Kracktemperaturen (Verfahren 2/1) erhöht praktisch nur den Umsatz ohne Änderung der Produktzusammensetzung[2]). Bestrahlt man jedoch bei Zimmertemperatur (Verfahren 1a), so entstehen überwiegend (80 bis 92%) Wasserstoff neben Methan und niederen Kohlenwasserstoffen[3]).

Es wäre denkbar, daß das Reaktionsbild 1a in das der Hochtemperaturbestrahlung 2/1 im Bereich der unteren Temperaturgrenze des Krackverfahrens 2 überginge. Wegen der unterschiedlichen Reaktionsmechanismen erwarteten wir jedoch andere Verhältnisse:

Bei Verfahren 1a finden keine Kettenreaktionen statt. Die Krackung nach Verfahren 2 erfolgt dagegen über Radikalketten, und die Spaltprodukte entstammen hier überwiegend den Kettenpropagationsreaktionen. Da diese Reaktionen niedrigere Aktivierungsenergien benötigen als die stark endothermen Initialprozesse der Krakkung, sollte die für das thermische Kracken wesentliche Kettenpropagation bereits unterhalb der zur thermischen Initiation benötigten Kracktemperaturen möglich sein. Deshalb erwarteten wir im Temperaturbereich zwischen Verfahren 1a und 2 (bzw. 2/1) noch ein weiteres strahlenchemisches Krackverfahren 1b mit ausschließlich strahlenchemischer Initiation, jedoch mit den zu typischen Krackprodukten führenden Radikalketten[4]), [5]). Dementsprechend sollte es eine Grenztemperatur ϑ für den Übergang von Verfahren 1a auf 1b geben, von der an die Produktzusammensetzung in steigendem Maße wesentlich durch die Kettenpropagation bestimmt wird (unter Zunahme von CH_4/H_2). Wir erwarteten ϑ für Paraffin etwa im Bereich von 300° C[6]).

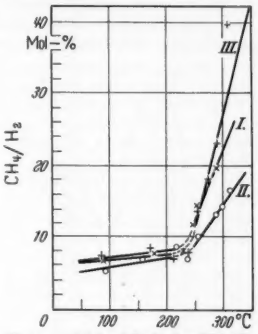


Fig. 1. Abhängigkeit des CH_4/H_2-Verhältnisses bei Elektronenbestrahlung von Paraffinöl. I. (×) 160 kV; 3,0 mA; 480 W. — II. (○) 160 kV; 1,6 mA; 360 W. — III. (+) 90 kV; 2,9 mA; 260 W

Bei Bestrahlung mit 90 bis 160 keV-Elektronen fanden wir diese Grenztemperatur, und zwar trotz Variation verschiedener Bestrahlungsparameter, stets im gleichen Bereich von 220 bis 250° C.

Wir bestrahlten mit einem Heraeus-Elektronengenerator[7]) (Schutzgas: N_2) in einer Umlaufapparatur mit elektrischer Heizung. In der Bestrahlungszone lief der Kohlenwasserstoff (paraffinum liquidum DAB 6, UV-spektroskopisch ermittelter Aromatengehalt $< 0{,}1\%$, mittleres Mol.-Gewicht etwa 390) als dünner Flüssigkeitsfilm über die Innenwand eines Rohres ab. Das entstehende Gas wurde auf H_2 und CH_4 analysiert (Perkin-Elmer-Gaschromatograph, I-Säule, Trägergas: Ar). Die Ergebnisse der verschiedenen Versuchsreihen sind in Fig. 1

übersichtlich zusammengefaßt; die reaktionskinetische Diskussion soll später erfolgen.

Im Bereich von 90 bis 320° C stieg die Geschwindigkeit der H_2-Bildung gegen höhere Temperaturen jeweils langsam und monoton an. Mit dem CH_4/H_2-Verhältnis nahm die Geschwindigkeit und Energieausbeute der CH_4-Bildung zu. Interessant ist die in den Versuchsserien I bis III beobachtete Abhängigkeit des CH_4/H_2-Verhältnisses von der Dosisrate. Möglicherweise kompensieren sich hier verschiedene Effekte.

Weitere Versuche mit aromatischen Beimischungen (0,05 bis 12% p-Terphenyl, Eastman, techn.) ergaben, daß die Kettenpropagation schon durch 6% p-Terphenyl soweit unterdrückt werden kann, daß im untersuchten Temperaturbereich keine Grenztemperatur mehr in Erscheinung tritt. (Eine Verschiebung der Grenztemperaturen bei niedrigeren Konzentrationen an p-Terphenyl trat nicht ein.)

Die Untersuchungen werden von uns in verschiedenen Richtungen fortgesetzt.

Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Abteilung Strahlenchemie, Mülheim-Ruhr.

GÜNTHER O. SCHENCK, GABOR FÖLDIÁK und WERNER MEDER

Eingegangen am 27. Mai 1961

[1]) SACHANEN, A. N., u. M. D. TILICHEYEV: Chemistry and Technology of Cracking, Chemical Catalog Comp., Inc., New York 1932. — [2]) LUCCHESI, P. J., B. L. TARMY, R. B. LONG, D. L. BAEDER u. J. P. LONGWELL: Ind. Engng. Chem. 50, 879 (1958). — [3]) SWALLOW, A. J.: Radiation Chemistry of Organic Compounds. Pergamon, London 1960. — [4]) DAINTON, F. S.: Chain Reactions, Methuen, London 1956. — [5]) TOPCHIEV, A. V., L. S. POLAK, N. Y. CHERNYAK, V. E. GLUSHNEV, I. V. VERESHCHINSKY u. P. Y. GLAZUNOV; in: Large Radiation Sources in Industry, Vol. 2, IAEA, Wien 1960, S. 131. — [6]) FÖLDIÁK, G.: Unveröffentlicht 1959. — [7]) SCHENCK, G. O.: Angew. Chem. 69, 579 (1957).

Zur Heterogenität von Enzymen
II: Reindarstellung von zwei Individuen der Malicodehydrogenase (MDH) aus Kartoffelknollen*)

Durch Vorfraktionierung mit Ammoniumsulfat, Entfernen von viel Fremdprotein mittels Tricalciumphosphatgel und anschließende Säulenchromatographie nach TISELIUS[1]) gelang die Reindarstellung von zwei Individuen der Malicodehydrogenase (MDH) aus Kartoffelknollen. Fig. 1 zeigt das Elutionsdiagramm aus der Tricalciumphosphatsäule (30 × 600 mm; 50 ml 4%iges wäßriges Tricalciumphosphat plus 200 g Kartoffelstärke; Elutionsmittel 0,1 molarer Phosphatpuffer nach SÖRENSEN pH 7,4). Die Spitzenfraktionen des Enzyms A mit einer spezifischen Aktivität > 16 μMole Substratumsatz/mg Protein/min wurden rechromatographiert, ebenso die aktivsten Fraktionen des Enzyms B mit einer spezifischen Aktivität > 11.

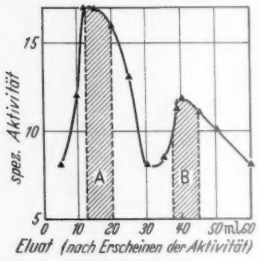


Fig. 1. Elutionsdiagramm einer säulenchromatographischen Vortrennung der zwei Individuen A und B von MDH aus Kartoffelknollen. Ordinate: Spezifische Aktivität (μMole Substratumsatz/mg Protein/min)

Von den beiden erhaltenen Reinenzymen A und B wurden Lösungen von 0,5% Proteingehalt in 0,1 mol. Sörensen-Puffer pH 7,4 hergestellt und die Sedimentations- und Diffusionskonstanten ermittelt sowie die Molekulargewichte errechnet (Tabelle). Fig. 2a und b zeigen das einheitliche Verhalten der beiden Enzymindividuen in der Ultrazentrifuge. Bemerkenswerterweise ergibt ein künstliches Gemisch der Enzyme A und B zwei Gradienten (Fig. 2c). Da sowohl die Elution als auch die Sedimentations- und Diffusionsversuche mittels Sörensen-Puffer stets gleichbleibender Zusammensetzung erfolgten, sind Änderungen des Aggregationsgrades der MDH-Molekeln infolge veränderten Ionenmilieus ausgeschlossen. A und B sind daher zwei Individuen der MDH.

Tabelle. *Sedimentationskonstante S_{20} und Diffusionskonstante D_{20}, beide auf Wasser und 20° C normiert*

MDH	$S_{20} \cdot 10^{13}$	$D_{20} \cdot 10^{6}$	Molekulargewicht
Individuum A .	1,81 ± 0,12	1,84 ± 0,22	9520
Individuum B .	3,06 ± 0,16	1,44 ± 0,24	20500

Eine ausführliche Publikation über Reindarstellung, Reaktionskinetik und Bausteinanalyse von MDH aus verschiedenen Pflanzen erfolgt an anderer Stelle.

a b c

Fig. 2a—c. Sedimentationsverhalten von MDH aus Kartoffelknollen (48000 min^{-1}; Ultrazentrifuge Phywe AG, Göttingen). a MDH, Individuum A; b MDH, Individuum B; c Künstliches Gemisch von A und B

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Unterstützung der Arbeiten.

Institut für Biochemie der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Hann. Münden

H. BOSER

Institut für Agrikulturchemie der Universität, Göttingen

G. PAWELKE

Eingegangen am 31. Mai 1961

*) I. Mitt.: BOSER, H.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 315, 163 (1959).

[1]) TISELIUS, A.: Ann. Acad. Sci. fenn. Ser. A. II. 60, 257 (1955).

The Role of Endotoxin in Autoimmune Processes

In a previous note it has been demonstrated that the animal organism may be hypersensitive against endotoxin[1]). In this paper we try to prove that endotoxin can modify homologous proteins to become antigenic and thus to produce a hypersensitive state resembling an autoimmune process.

Sensitization of 60 rabbits (1·5 to 2·5 kg) was carried out with saline washed homologous organ tissue-homogenate without endotoxin or mixed with purified typhoid endotoxin[1]). In the first set of experiments homogenates (300 to 600 mg in wet weight) were mixed with 5 to 50 μg endotoxin and the mixture was adsorbed onto $Al(OH)_3$. In another series of experiments tissue-homogenates adsorbed on $Al(OH)_3$ were administered without endotoxin. 4 weeks after the last sensitizing dose half of the animals were administered 2 intravenous doses of 20 μg endotoxin within 24 hs. In a third set of experiments only endotoxin adsorbed on $Al(OH)_3$ was injected. Rabbits were sensitized with the above antigens, antigen-mixtures or endotoxins 4 to 6 times intramuscularly in weekly intervals.

The following changes (a—e) seem worthy to be mentioned.

a) Sensitization of rabbits with a mixture of homologous myocardium-homogenate + endotoxin brought about chronic connective tissue proliferation with Aschoff-like nodules (Fig. 1). If the above animals were given 4 weeks after the sensitization endotoxin intravenously, haemorrhages and leucocyte infiltration also occurred besides the chronic lesions.

b) Sensitization of rabbits by homologous liver-homogenate + endotoxin evoked a chronic liver-injury with necrosis. Intravenous endotoxin injection in some of these animals resulted in foci in acute liver necrosis (Fig. 2).

c) Although the lesions produced by the homologous tissue-homogenates + endotoxin were chiefly localized to the organs by which the animals were sensitized, other organs were also involved.

d) About 40 percentage of the animals exhibited the microscopic changes described above.

e) Sensitization with tissue-homogenates without endotoxin did not cause significant lesions.

f) Rabbits treated with endotoxin alone showed no tissue damage.

The lesions described above are probably due to the modifying effect of endotoxin on homologous protein causing its antigenicity. According to our hypothesis this modification

plays an important role in the etiology of autoimmune processes.

It is deemed worthy to continue to examine whether additional endotoxin injections in the hypersensitive state can also evoke acute changes in the sensitized organs.

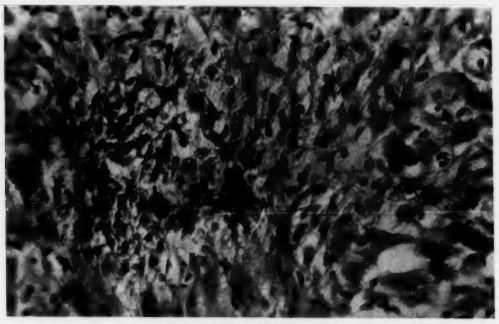


Fig. 1. The microscopic picture of the myocardium of a rabbit treated with homologous myocardium-homogenate + endotoxin. See text! Haematoxylin-eosin stain

In addition to endotoxin the homologous protein modifying effect of some drugs, viruses, fungi etc. may not be excluded. However, the prominent role of endotoxin in modifying own proteins to become antogenic is highly probable and may be presumed to be the consequence of lifelong symbiosis of animals with the endotoxin-producing microorganisms.

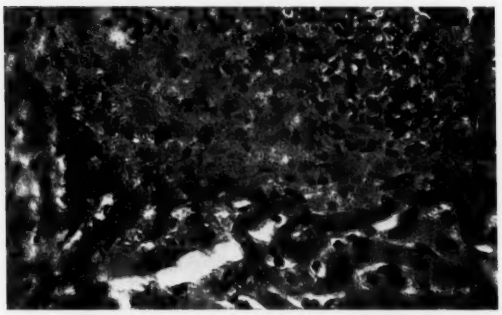


Fig. 2. Microscopic changes in the liver of a rabbit treated with homologous liver-homogenate + endotoxin. See text! Hamatoxylin-eosin stain

I am indebted to Dr. E. Kelemen and Dr. K. Kovács for their kind advice and help. More detailed data on the same topic will appear — with collaboration of Dr. G. Lázár and Dr. P. Végh — elsewhere.

Institute of Pharmacology, Medical University, Szeged, Hungary

Tibor G. Kováts

Eingegangen am 15. April 1961

[1]) Kováts, T. G.: Nature [London] (in press 1961).

Wirkung eines Hemmstoffes der Lebermikrosomenenzyme auf die oxydative Umwandlung von Corticosteron

Bei unseren Untersuchungen über den Corticosteroidstoffwechsel von Ratten in der Versuchsanordnung nach Herken, Senft und Wilutzky[1]) haben wir einen stark polaren Corticosteroid-Metaboliten isoliert, bei dem es sich offensichtlich um ein Oxydationsprodukt des Corticosterons handelt. Nach Chloroformextraktion des Urins erfolgt die Trennung der Corticosteroidfraktionen papierchromatographisch in zwei aufeinanderfolgenden Lösungsmittelsystemen mit anschließender quantitativer, spektrophotometrischer Doppelbestimmung (zuerst Messung der UV-Absorption bei 235 mμ, dann Bestimmung der Reduktion gegenüber Tetrazoliumsalzen) im Eluat[2]).

Aus Urinextrakten unvorbehandelter männlicher E_3-Ratten konnten wir neben geringen Mengen unveränderten Corticosterons hauptsächlich zwei Metaboliten isolieren, die beide noch eine reduzierende C_{21}-Seitenkette aufweisen. Dabei scheint der eine Metabolit im A-Ring hydriert, der andere im B-Ring oxydiert zu sein. A-Ring-Hydrierungen der Δ^4-3-Ketogruppe sind in der Literatur bisher mehrfach in vivo[3]) und in vitro[4]) bei den C_{21}-Steroiden beschrieben worden; Oxydationen am B-Ring sind besonders bei den Sexualhormonen[5]) nachgewiesen worden.

Die bisherige Konstitutionsermittlung des stark polaren Metaboliten spricht für einen — wahrscheinlich in C_6-Stellung-hydroxylierten Corticosteronabkömmling. Er zeigt eine positive Blau-Tetrazoliumreduktion sowie eine positive UV-Lichtabsorption, deren Maximum allerdings etwas ins Kurzwellige nach 236 mμ verschoben ist. Das I.R.-Spektrum*), das von etwa 350 γ kristallin erhaltener Substanz angefertigt worden ist, bestätigt die intakte α-Ketolgruppe in der Seitenkette sowie die konjugierte Doppelbindung im A-Ring. Das H_2SO_4-Spektrum zeigt weitgehende Übereinstimmung mit der Lage der Maxima des Corticosterons (Fig. 1).

Eine C_6-Hydroxylierung halten wir für wahrscheinlich, weil synthetische C_6-OH-Corticoide ebenfalls eine starke Zunahme ihrer Polarität sowie eine Verschiebung ihres UV-Spektrums nach 235 mμ aufweisen. Eine C_{17}-Hydroxylierung

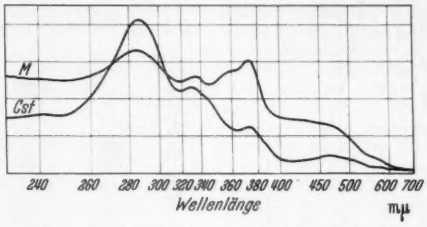


Fig. 1. H_2SO_4-Spektrum. Cst = Corticosteron-Reinsubstanz; M = Oxy-Metabolit aus Rattenurin

konnte durch eine negative Porter-Silber-Reaktion ausgeschlossen werden, während wir eine C_{16}-Hydroxylierung noch nicht näher nachgeprüft haben.

Die Hydroxylierung scheint bei Ratten die Corticosteron-Molekel zu bevorzugen. Denn zusätzliche Verabreichung von Corticosteron an intakte männliche E_3-Ratten steigert die Ausscheidung um 30 bis 35%, während nach Gabe von Hydrocortison kein Anstieg des polaren Metaboliten erfolgt.

In Nebennierenextrakten ist der Metabolit nicht nachweisbar. Demnach scheint der Hydroxylierungsprozeß nicht in den Nebennieren, sondern vermutlich in der Leber abzulaufen. Als Beweis dafür kann angesehen werden, daß nach Vorbehandlung der Ratten mit einem spezifischen Hemmstoff der oxydierenden Enzyme der Lebermikrosomen[6]), dem Phenyldiallylessigsäureester des Diäthylaminoäthanols (CFT 1201), eine Minderung der Ausscheidung des oxydierten Metaboliten um 80% erfolgt. (Bei den Kontrollen betrug die Ausscheidung 14,2 γ/Tier/24 Std.) Diese Lebermikrosomenhemmstoffe blokkieren also nicht nur die oxydativen Umwandlungen körperfremder Stoffe[7]), sondern auch den oxydativen Stoffwechsel eines *endogenen* Substrates. Einige Beobachtungen sprechen dafür, daß es sich bei diesem isolierten, oxydierten Metaboliten nicht um ein inaktiviertes Abbauprodukt der Corticosteroide handelt.

Pharmakologisches Institut der Freien Universität, Berlin

Hans Herken und Edith Seeber

Eingegangen am 13. Mai 1961

*) Für die Anfertigung des IR-Spektrums danken wir Herrn Dr. Neudert der Firma Schering A.G., West-Berlin.

[1]) Herken, H., G. Senft u. H. Wilutzky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **229**, 123 (1956). — Herken, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmakol. **238**, 158 (1960), s. dort weitere Lit. — [2]) Seeber, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. (im Druck). — [3]) Yates, F. E., A. L. Herbst u. J. Urquhart: Amer. J. Physiol. **194**, 65 (1958). — [4]) Leybold, K., u. Hj. Staudinger: Biochem. Z. **331**, 399 (1959). — [5]) Breuer, H., L. Nocke u. R. Knuppen: Naturwissenschaften **46**, 397 (1958). — [6]) Neubert, D., u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **225**, 453 (1955). — [7]) Axelrod, J., I. Reichenthal u. B. B. Brodie: J. Pharmacol. Exp. Therapeut. **112**, 49 (1954). — Neubert, D., u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **225**, 453 (1955). — Herken, H., W. Hoffmann u. D. Maibauer: Naturwissenschaften **43**, 302 (1956). — Herken, H., D. Neubert u. R. Timmler: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. **237**, 319 (1959).

A Modified Procedure for the Purification of Fibrinogen

Fibrinogen preparations, purified by several workers[1–4]) differ from one another in purity and stability. LAKI[2]) obtained 97% clottable preparation of fibrinogen from Cohn fraction I. of bovine plasma by salting out with ammonium sulphate. JOHNSON and SEEGERS[5]) made use of the low solubility of fibrinogen at 0 to 4° to obtain very pure and stable preparations. The methods suffer from the drawbacks such as poor stability and/or low yields. In connection with a study of species differences in fibrinogens, we have obtained highly stable and pure preparations in greater yields from sheep, Indian buffalo and bovine plasma by a modified method which combined the essential features of the procedures of LAKI and of JOHNSON and SEEGERS.

Sheep and buffalo plasma (one litre each) were obtained by centrifugation of oxalated blood. The starting material for the preparation of bovine fibrinogen was bovine plasma fraction I (a Pentex product, 76% clottable) obtained through the kind courtesy of Prof. WALTER H. SEEGERS of Wayne University, Mich., U.S.A. The plasma samples were frozen at −20°, they were thawed by beating with a metal rod until a small portion (about $^1/_{30}$th volume) remained as a slush. Ethanol precooled at −20° was added in a thin spray with continuous stirring to give a final concentration of 8% (v/v). The temperature was never allowed to rise more than 2°. After standing for 10 min. at 2° the precipitated fibrinogen was collected by centrifugation in chilled tubes at 2500 rpm for 2 min. All the fibrinogen was transferred to a single precooled centrifuge tube (120 ml capacity) by means of a spatula. The precipitate was dispersed in 10 ml ice-cold saline and centrifuged for 1 min at 2500 rpm. The process was repeated nine times when the fibrinogen tended to stick to the stirrer as a gel. At this stage the product retained a faint brown colour. It was frozen over-night at −20°. Next day it was force-thawed and centrifuged when a white precipitate of fibrinogen separated leaving a coloured supernatant. The precipitate was washed repeatedly with 5 ml lots of 1% saline. Normally six washes were found to be sufficient. The snow-white precipitate was then brought into solution by stirring gently with 50 ml saline at 37°. Undissolved matter was removed by centrifugation for one hour at 2000 rpm. The clottability of the opalescent solution was estimated according to the method of JOHNSON and SEEGERS[5]). Fig. 1 shows the removal of non-clottable protein by simple washing of bovine plasma fraction I with cold saline. The protein, in the washing, rapidly decreases and attains a constant value which is due to the solubilization of fibrinogen during dispersion and centrifugation. The protein left behind is pure fibrinogen. The Table gives the yields and clottability of the three preparations.

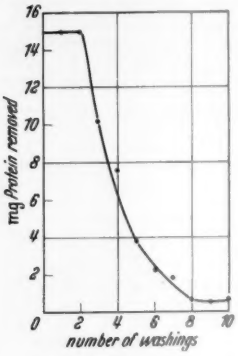


Fig. 1

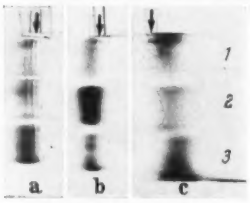


Fig. 2

Fig. 1. 200 mg of bovine plasma fraction I (Pentex product 76% clottable) was washed with 3 ml portions of ice-cold saline (1%). The protein content in the washings was measured by the Biuret method[6])

Fig. 2. Agar electrophoretic patterns of purified fibrinogens at p_H values indicated, 250 V., 10 mA., 6 hr., a p_H 6·0 and b 7·0 phosphate buffers[9]), $\mu = 0{\cdot}1$; c p_H 8·6, veronal-acetate-HCl buffer $\mu = 0{\cdot}1$[8]) (the direction of current flow was from left to right). 1 Sheep, 2 bovine, 3 buffalo

The fibrinogen prepared by this method was free of fibrinolysin since no lysis of the clot was observed during 48 hrs. of incubation. Repeated freezing and thawing did not affect the stability. The preparations were stable for three months at −20°. The yield of fibrinogen by the present method is very high (60 to 80%) as compared to 30% yield reported by NUSSENWEIG et al.[7]) and approximately 35% as calculated from the report of WARE et al.[1]).

Table. *Yields and Clottability of Fibrinogen Preparations*

Preparation	Clottability	Yield
1. Sheep fibrinogen . . .	97—100%	60—65%
2. Bovine fibrinogen . . .	95— 97%	70—80%
3. Buffalo fibrinogen . . .	95—100%	68—70%

Electrophoretic examination according to GIRI[8]) in buffers of ionic strength 0·1 (phosphate, p_H 6·0 and 7·0, veronal-acetate-HCl, p_H 8·6) showed a single zone in all the three preparations. Fig. 2 shows the agar electrophorograms.

The authors thank the C.S.I.R. (India) for financial assistance and the Mysore Govt. Serum Institute for the supply of buffalo blood.

Department of Biochemistry, Indian Institute of Science, Bangalore-12 (India)

H. R. CAMA, S. A. KUMAR and G. J. S. RAO

Eingegangen am 10. Juni 1961

[1]) WARE, A. G., M. M. GUEST and W. H. SEEGERS: Arch. Biochem. **13**, 231 (1947). — [2]) LAKI, K.: Arch. Biochem. Biophys. **32**, 317 (1951). — [3]) LORAND, L.: Biochemic. J. **52**, 200 (1952). — [4]) BLOMBÄCK, B., and M. BLOMBÄCK: Ark. Kemi **10**, 425 (1956); — Chem. Abstr. **51**, 16645 (1957). — [5]) JOHNSON, J. F., and W. H. SEEGERS: Blood Coagulation Techniques used in Wayne University, p. 48. 1953. — [6]) GORNALL, A. G., C. J. BARDAWILL and M. M. DAVID: J. Biol. Chem. **177**, 751 (1949). — [7]) NUSSENWEIG, V., M. SELIGMANN, J. PELMONT and P. GRABER: Ann. Inst. Pasteur **100**, 377 (1961). — [8]) GIRI, K. V.: J. Indian Inst. Sci. **38**, 190 (1955). — [9]) MILLER, G. L., and R. H. GOLDER: Arch. Biochem. **29**, 451 (1960).

Über die photooxydative Inaktivierung von Carboanhydratase (CAH) aus Rindererythrocyten

Die mögliche Bedeutung der Imidazolgruppen für die enzymatische Aktivität der CAH[1]) führte uns zu dem Versuch, durch photooxydativen Abbau von Histidin die Ferment-Aktivität herabzusetzen bzw. ganz zu zerstören. Wie WEIL u. Mitarb.[2]) bei Versuchen an Aminosäuren, Lysozym, Chymotrypsin und Ribonuclease zeigen konnten, beruht die Wirkung von sichtbarem Licht und Sauerstoff in Gegenwart von Spuren Methylenblau im wesentlichen auf einer Oxydation von Histidin, Tryptophan, Tyrosin, Methionin und Cystin.

Wir arbeiteten mit einer aus Rindererythrocyten gewonnenen CAH, die über einen DEAE-Cellulose-Ionenaustauscher gereinigt und rechromatographiert war. Sie enthielt 15,9% Gesamt-N, 1,05% α-Amino-N, 0,96% Amid-N, 0,22% Zn und besaß eine katalytische Aktivität von 1700 Philpot-Einheiten. Die spezifische Aktivität des Fermentes wurde nach der von KEILIN und MANN[3]) beschriebenen kolorimetrischen Methode bestimmt und die Zeit in Sekunden gemessen, in der die Farbe des Indikators (Phenolrot) von purpurrot nach fahlgelb umschlug. Die Fermentlösung I (0,05% CAH in 0,01 mol. Tris-HCl-Puffer vom p_H 8,0, der 0,005% Methylenblaue nthielt) wurde mit zwei 300 Watt-Lampen bei +2° im Sauerstoffstrom belichtet. Nach jeweils 15, 30, 45, 60 und 120 min wurde der belichteten Lösung 1 cm³ entnommen, im Meßkolben mit eiskaltem Tris-HCl-Puffer (p_H 8,0 0,01 molar) auf 100 ml aufgefüllt. 1 cm³ dieser verdünnten Lösung diente zur Aktivitätsmessung. Zum Vergleich wurden noch Fermentlösungen gemessen, die ohne Methylenblau aber im Sauerstoffstrom (II) und mit Methylenblau im Stickstoffstrom (III) in gleicher Weise behandelt wurden. Wie die Tabelle 1 zeigt, trat in Gegenwart von Methylenblau und Sauerstoff schon nach 1 Std ein nahezu vollständiger Aktivitätsverlust ein.

Tabelle 1. *Indikatorumschlag*
(Mittelwerte aus je 10 Einzelwerten)

Fermentlösung	Belichtungszeit in Minuten					
	0	15	30	45	60	120
I	22*)	39	43	54	62	61
II	23	22	22	23	22	22
III	22	22	23	22	22	22

*) = Zeit des Indikatorumschlags in sec; für die Pufferlösung ohne Ferment betrug sie im Durchschnitt 64 sec.

Um die chemischen Veränderungen der CAH während der Photooxydation mit dem aufgetretenen Aktivitätsverlust in Beziehung zu bringen, haben wir die 2 Std belichtete Fermentlösung 48 Std gegen destilliertes Wasser bei $+4°$ dialysiert, den Rest Methylenblau mit einem Minimum an Aktivkohle entfernt, die Lösung gefriergetrocknet und das anschließend 15 Std bei 60° und 1 Torr über P_2O_5 getrocknete Pulver einer 40stündigen Hydrolyse mit 20%iger HCl bei 105° unterworfen. Da uns in erster Linie Histidin und Tyrosin interessierten, haben wir das Hydrolysat an einer kurzen Dowex 50 × 8-Säule (200 bis 400 mesh) mit Na-Citratpuffer p_H 6,00 (0,38 Mol Na^+) und 0,02 mol NaOH getrennt und die basischen Aminosäuren mit Ninhydrin nach STEGEMANN[4]) bestimmt. Dasselbe wurde mit einer unbelichteten Fermentlösung getan. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 aufgeführt und zeigen, daß bei der Photooxydation vor allem die Aminosäuren Histidin, Arginin und Tyrosin angegriffen wurden.

Tabelle 2. *Analyse der basischen Aminosäuren unbelichteter und belichteter CAH*)*

Aminosäure (AS)	Unbelichtet		Belichtet		
	% AS	Mol AS / Mol CAH*)	% AS	Mol AS / Mol CAH	AS-Verlust (%)
Tyr	3,82	6,5	2,89	4,9	21,8
Phe	5,13	9,6	4,57	8,6	11,0
His	6,26	12,4	2,57	5,2	58,9
Lys	7,41	15,8	7,80	16,4	—
Arg	5,75	10,2	3,06	5,4	46,8

*) Molgew. 31000.

Eine ausführliche Darstellung erfolgt an anderer Stelle.

Für freundliche Unterstützung bei dieser Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. K. THOMAS herzlich danken, den Herren W. GELLERT und H. POKOJSKI für ihre fleißige Mitarbeit.

Medizinische Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft, Göttingen, Bunsenstr. 10

MANFRED LIEFLÄNDER

Eingegangen am 5. August 1961

[1]) LIEFLÄNDER, M., u. H. STEGEMANN: Z. Physiol Chem. **326** (1961). — [2]) WEIL, L., S. JAMES u. A. R. BUCHERT: Arch. Biochem. and Biophys. **46** 266 (1953). — [3]) KEILIN, D., u. T. MANN: Biochem. J. **34**, 1163 (1940). — [4]) STEGEMANN, H.: Z. physiol. Chem. **319**, 102 (1960).

Über die Strahlenempfindlichkeit von Zellkern-Proteinen

Aus Sucrose-isolierten Zellkernen läßt sich mit physiologischer Kochsalzlösung eine Albumin-Globulin-Fraktion extrahieren, die noch nukleare Enzyme und erhebliche Mengen von RNS enthält. Anschließend können mit verdünnter Salzsäure die Histone aus den Kernresten gelöst werden[1]). Nach Ganzkörper-Röntgenbestrahlung (1000 r) weißer Ratten wurde eine sofort einsetzende Verminderung beider Nukleoproteine in den als besonders strahlenempfindlich betrachteten Organen Thymus und Milz festgestellt[2]). Die Untersuchung wurde nun auf Rattenleber ausgedehnt; über die erhaltenen Ergebnisse einer erheblichen Strahlenempfindlichkeit auch von Leber-Nukleoproteinen soll kurz berichtet werden:

Tabelle. *Strahleninduzierte Änderungen im Stickstoffgehalt zweier Nukleoproteinfraktionen.* (Ratten-Männchen, 1000 r Ganzkörper-Bestrahlung)

Zeit*)	Milz		Thymus		Leber	
	Globulin/Albumin	Histone	Globulin	Histone	Globulin/Albumin	Histone
	In mg Protein-N/g Gewebe					
0	2,64 ± 0,33	2,50 ± 0,41	1,52 ± 0,50	3,92 ± 0,56	1,95 ± 0,37	2,28 ± 0,30
0,5	0,73 ± 0,35	2,00 ± 0,25	0,67 ± 0,21	3,60 ± 0,42	1,53 ± 0,21	1,96 ± 0,37
1	1,48 ± 0,53	1,80 ± 0,31	0,64 ± 0,22	2,90 ± 0,31	1,35 ± 0,22	1,89 ± 0,25
2	1,74 ± 0,43	2,39 ± 0,26	0,77 ± 0,38	3,05 ± 0,35	1,32 ± 0,30	1,94 ± 0,29
	In mg Nukleoprotein-N/Organ					
0	1,19	1,12	0,50	1,30	11,30	13,20
0,5	0,34	0,93	0,22	1,17	8,85	11,40
1	0,70	0,85	0,21	0,94	7,85	10,90
2	0,80	1,10	0,25	1,00	7,70	11,20

*) Zeit nach der Bestrahlung (in Std).

In der Tabelle ist zunächst der analysierte Nukleoprotein-Stickstoff (Conway-Verfahren) pro Gramm Gewebe aufgeführt. Der schon 30 min nach dem Insult statistisch zu sichernde Proteinverlust ist unseres Wissens der chemisch am frühesten nach Bestrahlung nachweisbare Schaden im Zellkern. Es dürfte sich um den Eiweiß-Austritt handeln, den WENDT[3]) phasenmikroskopisch beobachtet hat. In Thymus und Milz setzen bald nach Ganzkörperbestrahlung Organ-Involutionen ein, die auf den Zelluntergang von Lymphozyten zurückgeführt werden, während das Lebergewebe keiner Gewichtsverminderung unterliegt. Als Bezugssystem für die analysierten Stickstoffwerte empfehlen sich deshalb die jeweiligen Organgewichte.

Erst bei der tabellarischen Zusammenstellung des Nukleoproteingehaltes im gesamten Organ läßt sich erkennen, welche Bedeutung der strahleninduzierte Eiweißverlust für den Zellkern haben muß. Die in Leber im Verhältnis zu Milz und Thymus geringere Albumin-Globulin-Verminderung pro Gramm Gewebe summiert sich in diesem Organ zu 22 mg Kern-Eiweiß gegenüber 3 mg in der Milz und 1,5 mg im Thymus; dazu kommen 12 bzw. 1,5 und 2 mg Histon-Eiweiß, die unmittelbar nach der Bestrahlung aus den Zellkernen austreten und hierdurch zweifellos nicht nur deren Funktion beeinträchtigen, sondern auch den Zustand des Cytoplasmas, in das sie übergehen, stören. Doch ergibt sich aus dem späteren Kurvenverlauf, daß die Schädigung des Leberzellkerns reversibel ist, während in Milz und Thymus nach einer kurzen Erholungsphase weitere Nukleoproteinverluste erfolgen. Hier wirkt sich der massive Zelluntergang aus, von dem die Leber nicht betroffen ist. Es bleibt zu klären, in welchem Maße und in welcher Weise die strahleninduzierte plötzliche Nukleoprotein-Verschiebung in einem stoffwechselphysiologisch so entscheidenden Organ, wie es die Leber darstellt, zur Entwicklung und Ausprägung des Strahlenschadens beiträgt.

Biophysikalische Abteilung des Heiligenberg-Instituts (Leiter: Prof. Dr. H. LANGENDORFF), *Heiligenberg (Baden)*

HANNA ERNST

Eingegangen am 29. Mai 1961

[1]) ERNST, H., u. U. HAGEN: Z. Naturforsch. **15b**, 597 (1960). — [2]) ERNST, H.: Z. Naturforsch. (im Druck). — [3]) WENDT, E.: Z. Zellforsch. **49**, 677 (1959).

The Action of β-Indolacetic Acid (IAA) on Animal Cell Mitotic Activity

It is known that some synthetic compounds (for instance, β-indolacetic acid) which are similar to natural auxins stimulate growth in plants and even induce the development of tumours in plants[1]). In the literature, there are, however, relatively scant data on the effect of this hetero-auxin on animal organisms[2–5]). According to the findings of RAOULT[6]) IAA promotes growth in animals, while according to MANKOWSKY[7]) it also stimulates the growth of tumours in animals. On the other hand, DYE and coworkers[8]) report that the plant hormones examined by them—including β-indolacetic acid—do not influence the development of albino rats. KLINE and RUSCH[9]) in their investigations with plant hormones have found that the development of Flexner-Jobling and Walker tumours is not influenced if the tumour-bearing animals have been treated with plant hormones; on the other hand, if the cancer cell is put in contact with plant hormones prior to the grafting, the latter seem to exert an antitumoral action.

In order to contribute towards the elucidation of certain aspects connected with these problems we have investigated the action of β-indolacetic acid on mitotic activity in normal mice. We carried out experiments in 2 groups of 80 animals each (weight 18—22 g). The first group was given 2—5—10 mg of β-indolacetic acid each, intraperitoneally, while the controls received physiologic saline (each animal was given 0·5 ml). After 30 min the animals were given 50 γ colchicine, likewise i. p. After 6 hours, the animals were sacrificed. The jejunal loop was fixed in BOUIN's solution and after being embedded in paraffin, 6 micron sections were done. Haematoxilineosin staining. The mitoses were counted in LIEBERKÜHN's crypts on three transverse sections.

From the table it may be seen that the doses of 2—5—10 mg of IAA exert an inhibitory action on mitotic activity. In order to investigate the action of smaller doses, in the second series of experiments we analysed the effect of the doses of 0·1—0·25—0·5 mg given intraperitoneally to mice weighing 17 g on an average. As may be seen from the table these smaller doses do not affect mitotic activity in LIEBERKÜHN's crypts, in albino mice.

Table

No.	Experiment	No. of mitoses	t	p
1.	Control	954·5 ± 112	—	—
	2 mg IAA	635·2 ± 84	2·1	0·05
	5 mg IAA	492·6 ± 45	3·5	< 0·01
	10 mg IAA	376·3 ± 33	3·96	≪ 0·01
2.	Control	816 ± 102	—	—
	0·1 mg IAA	855·2 ± 48	0·27	—
	0·25 mg IAA	693·4 ± 58	1·00	—
	0·50 mg IAA	612 ± 52	1·62	> 0·10

Conclusions. β-Indolacetic acid (IAA) when injected intraperitoneally to mice in doses of 2—5—10 mg inhibits mitotic activity in LIEBERKÜHN's crypts; doses of 0·1—0·25—0·5 mg are ineffective. The experiments were performed according to DUSTIN's colchicine method.

Staţiunea Zoologică Marină, Agigea

L. LEAHU*)

Institutul Medico-Farmaceutic, Tg. Mures (Rumania)

F. GYERGYAY, E.M. GYERGYAY and CS. HADNAGY

Eingegangen am 5. Juni 1961

*) Present address: Str. Polona 25, Bukarest 36 (Rumania)

[1]) KRAUS, E. J., N.A. BROWN and K.C. HAMMER: Bot. Gaz. **98**, 370 (1936). — [2]) ANDERSON, H.H., M.B. SHIMKIN and C.D. LEAKE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **34**, 138 (1936). — [3]) BERNARD, B. DE: Boll. Soc. ital. Biol. speriment. **27**, 803 (1951); **28**, 81 (1952); **30**, 457 (1954). — [4]) ZAMBOTTI, V., u. B. DE BERNARD: Boll. Soc. ital. Biol. speriment. **28**, 928 (1952); — Giorn. Biochem. **2**, 203 (1953). — [5]) ALHO, A.: Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. **38**, 71 (1960). — [6]) RAOULT, Y.: Bull. Soc. Chim. Biol. **26**, 497 (1944). — [7]) MANKOWSKY, Z.: Ann. Parasitol. humaine comp. **24**, 396 (1949). — [8]) DYE, jr. W.S., M.D. OVERHOLSER and C.G. WINSON: Growth (1944) **8**, 1; — Biol. Abstr. **18**, 17694 (1944). — [9]) KLINE, B.E., and H.P. RUSCH: Cancer Res. **3**, 702 (1943).

Die Wirkung lebender und abgetöteter Hefe auf Tumoren bei Mäusen

Angeregt durch Erfahrungen von PROTTI[9]), wonach lebenden Hefezellen onkolytische Wirkungen zukommen sollen, konnte in eigenen Voruntersuchungen[4]) eine tumorhemmende Wirkung lebender Zellen der Hefe Rhodotorula rubra in vivo (am Walker-Carcinom 256 der Ratte) und in vitro (Ehrlichsches Mäuse-Ascites-Carcinom) beobachtet werden.

Zur Bestätigung dieser Befunde wurden nunmehr weitere Untersuchungen sowohl am Ehrlichschen Mäuse-Ascites-Carcinom als auch an einem transplantablen, konstant wachsenden Mamma-Carcinom der C_3H-Maus durchgeführt. Verwendet wurden wiederum lebende bzw. mechanisch abgetötete, nicht mehr infektionsfähige Rhodotorula rubra-Zellen in definierter Anzahl pro dosi.

Behandlung ascitesbeimpfter Tiere der Stämme C_3H, DBA, NMRI und Atlas mit lebender wie auch abgetöteter Hefe bedingte in Abhängigkeit von der Zellzahl pro Behandlungsdosis ($10 \cdot 10^6$ bis $100 \cdot 10^6$ Zellen, i.p., in zweitägigem Abstand verabreicht) und dem Abstand des Behandlungsbeginnes von der Tumortransplantation (2 bis 42 Std) bei 13 von 100 behandelten Tieren Ausheilung, bei 50 Tieren des Stammes Atlas eine eindeutige Verlängerung der Überlebenszeit (um 47 bis 94% der Kontrollwerte) mit gleichzeitig erheblicher Zunahme der Ascitesmenge nach Gaben lebender Hefe (um 61 bis 170% der Kontrollwerte).

Inkubation von $50 \cdot 10^6$ Ehrlich-Ascites-Tumorzellen mit einer gleichen Zahl lebender bzw. vorher abgetöteter Hefezellen über 6 Std bei 37° C in Ringerlösung verringerte das Infektionsvermögen dieser Tumoraufbereitung gegenüber gleichzeitig nur mit Ringerlösung inkubiertem Tumorascites gleicher Konzentration signifikant. Während von 53 mit unbeeinflußtem Tumor beimpften Kontrolltieren keines überlebte, blieben 6 von 78 Kontrolltieren nach Überimpfung des mit Ringerlösung inkubierten Tumors am Leben (7,7%) sowie 48 (von 83) nach Ascites-Inkubation mit lebender Hefe beimpfte und 46 (von 68) nach Ascites-Inkubation mit abgetöteter Hefe beimpfte Tiere (57,8 bzw. 68,8%) tumorfrei; Tiere mit Ascites wiesen, dank der Ascites-Vorbehandlung, ebenfalls verlängerte Überlebenszeiten (bis um 101,5% der Kontrollwerte) wie auch erhöhte Ascitesmengen (bis zu 100%) auf.

Das Adenocarcinom der C_3H-Maus erwies sich bei subcutanem Wachstum und intratumoraler Behandlung als nicht ausheilbar; die Überlebenszeit konnte jedoch um 30% verlängert werden.

Intraperitoneal überimpftes Carcinom konnte jedoch mit $2{,}5 \cdot 10^6$ lebenden Zellen (zweimal wöchentlich) über sechs Wochen behandelt, bei 3 von 15 Tieren ausgeheilt, bei den restlichen Tieren merkbar beeinflußt werden: Die durchschnittliche Überlebenszeit überschritt die der Kontrollen um 21,3 Tage (+ 74%).

Entgegen der von BAYERLE, STICKLER und KOTTMEIER[1]) wie auch SUIGURA[10]) vertretenen Auffassung und in Übereinstimmung mit DILLER[2]), GOTTSCHALK[3]), LEWINSOHN[6]), [7]) und PROTTI[9]) kann somit Hefen eine deutlich nachweisbare tumorbeeinflussende Wirkung zugeschrieben werden. Diese ist nicht an lebende Hefezellen — die im Organismus 12 Std nach Applikation bereits nicht mehr nachgewiesen werden können — gebunden: Mechanische Zerstörung der Zellen scheint die tumorbeeinflussende Wirkung nicht zu beeinträchtigen, eher zu intensivieren.

Zur Frage des Wirkungsmechanismus sei auf die von LETTRÉ diskutierte Konkurrenzsituation in vivo im Kohlehydratverbrauch zwischen Tumor und Mikroorganismen verwiesen, die zur Tumorhemmung führt[5]), bzw. auf die von PABST vermutete unspezifische RES-Aktivierung, die zum Teil auf dem Wirkstoffgehalt, besonders an Vitamin B-Komplex der Hefen, beruhen soll[8]). In vitro scheint auch die von DILLER[2]) beschriebene onkolytische Direktwirkung im Vordergrund zu stehen.

Widersprechende Befunde der verschiedenen Autoren dürften auf unterschiedliche Tierarten, Rassen, Tumoren, Hefearten, Hefekonzentrationen und Applikationsarten zurückzuführen sein.

Über weitere Untersuchungen über die Wirkung von Fraktionen abgetöteter Hefezellen wird an anderer Stelle berichtet werden.

Hauptlaboratorium der Schering A. G., Berlin-West

WOLFGANG JÖCHLE

Eingegangen am 31. Mai 1961

[1]) BAYERLE, H., G. STICKLER u. P. KOTTMEIER: Z. Krebsforsch. **59**, 389 (1953). — [2]) DILLER, J.C., Z.T. MANKOWSKI u. L.T. HARRIS: Cancer Res. **14**, 848 (1954). — [3]) GOTTSCHALK, F.: Münch. med. Wschr. **93**, 1707 (1951). — [4]) GRATZL, K., u. W. JÖCHLE: Unveröffentlicht. — [5]) LETTRÉ, H.: Naturwissenschaften **40**, 109 (1953). — [6]) LEWINSOHN, R., C. LEUCHTENBERGER, R. LEUCHTENBERGER u. D. LASZLO: a) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **43**, 558 (1940); — b) Amer. J. Path. **17**, 251 (1941). — [7]) LEWINSOHN, R., C. LEUCHTENBERGER, R. LEUCHTENBERGER, D. LASZLO u. K. BLOCH: Cancer Res. **1**, 799 (1941). — [8]) PABST, H.W.: Krebsarzt **9**, 324 (1954). — [9]) PROTTI, G.: a) Pathologia **38**, 147 (1946); — b) Tumori **37**, 167 (1951). — [10]) SUIGURA, K.: Approaches to Tumor Chemotherapy. Washington D.C.: Amer. Assoc. for Advancement of Science Symposium, 1945/46.

Der therapeutische Einfluß der Splenektomie auf den Strahlenschaden bei Ratten

In früheren Mitteilungen konnten wir über die Erhöhung der Überlebensrate von Mäusen nach subletaler Ganzkörperbestrahlung durch die Splenektomie 14 Tage vor der Bestrahlung[1]), [2a]) sowie den therapeutischen Einfluß der Splenektomie bei der Maus[1b]), [2b]) berichten. Nachdem DE FRANCISCIS und SCANZANI[3]) einen Schutzeffekt bei Meerschweinchen durch die Splenektomie 15 Tage vor der Bestrahlung und TRICOU und DOULL[4]) einen solchen bei Mäusen durch die Splenektomie 24 Std vor der Bestrahlung feststellten, war es erforderlich, den Einfluß der Splenektomie auf die bestrahlte Ratte zu untersuchen.

Weibliche weiße Ratten des Heiligenberger Stammes mit einem Durchschnittsgewicht von 150 g wurden 1 Std nach Ganzkörperbestrahlung mit 690 r splenektomiert. Die Bestrahlung wurde mit einer Apparatur der Fa. C.H.F. Müller, Hamburg, Typ MG 300 durchgeführt (200 kV, 15 mA, 0,52 mm Cu-Filter). Es ergab sich:

	Kontrollen	Splenektomiert
Überlebende nach 30 Tagen . .	8/50 = 16%	64/70 = 91,5%

Die aufgeführten Werte zeigen, daß durch die Splenektomie 1 Std nach subletaler Ganzkörperbestrahlung bei Ratten ein eindeutiger therapeutischer Effekt auf die Strahlenkrankheit im Sinne einer Erhöhung der Überlebensrate erzielt werden kann. Der Einfluß der therapeutischen Splenektomie

auf den Strahlenschaden ist damit bei der Ratte deutlich günstiger als bei der Maus[1b),2b)]; das gilt auch für den Schutzeffekt der Splenektomie vor der Bestrahlung[5)].

Wir werden noch an anderer Stelle ausführlich zu diesen Fragen Stellung nehmen.

Radiologisches Institut der Universität, Freiburg i. Br., und Heiligenberg-Institut, Heiligenberg/Baden, Biophysikalische Abteilung (Direktor: Prof. Dr. H. LANGENDORFF)

H.-J. MELCHING, O. MESSERSCHMIDT und K. SHIBATA

Eingegangen am 12. Juni 1961

[1)] MELCHING, H.-J., u. O. MESSERSCHMIDT: a) Naturwissenschaften **47**, 307 (1960); — b) Med. Klin. **55**, 1831 (1960). — [2)] MELCHING, H.-J., O. MESSERSCHMIDT u. CH. STREFFER: Strahlentherapie a) **114**, 179 (1961); — b) Im Druck. — [3)] FRANCISCIS, P. DE, u. E. SCANZANI: Radiology **73**, 424 (1959). — [4)] TRICOU, B., u. J. DOULL: USAF Rad. Lab. Quart. Progr. Rep. **36**, 85 (1960). — [5)] MELCHING, H.-J.: O. MESSERSCHMIDT u. K. SHIBATA: Noch nicht veröffentlichte Ergebnisse.

Hemmende Wirkung von TRIS-Puffer auf die Hill-Reaktion in isolierten Chloroplasten

Über die p_H-Abhängigkeit sowie über den Einfluß verschiedener Puffersysteme auf die Hill-Reaktion wurde bereits von verschiedenen Autoren berichtet[1)],[2)],[6)],[8)]. Der p_H-Bereich, in dem die Hill-Reaktion gemessen werden kann, ist relativ groß (p_H 5,9 bis 8,7); das Optimum ist vom verwendeten Oxydans abhängig. WARBURG et al.[7)] berichteten, daß bei Verwendung von Benzochinon als Oxydans bei p_H 8 eine chemische Reoxydation des gebildeten Hydrochinons erfolgt. Da das p_H-Optimum der Photosynthesephosphorylierung jedoch in diesem p_H-Bereich liegt, erfolgt die gleichzeitige Messung von Hill-Reaktion und Phosphorylierung in schwach alkalischem Milieu, wobei in erster Linie TRIS-Puffer verwendet wird.

Bereits KROGMANN und VENNESLAND[3)] zeigten, daß die zyklische Photosynthesephosphorylierung bei höheren TRIS-

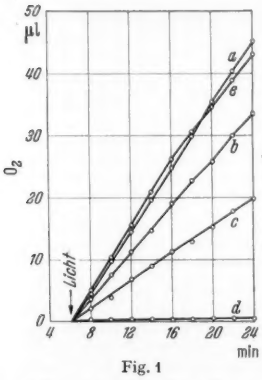


Fig. 1

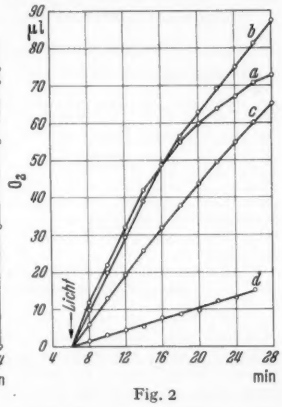


Fig. 2

Fig. 1. Einfluß von gealtertem TRIS-Puffer auf die Hill-Reaktion. *a* und *b* TRIS-Puffer (frisch), p_H *a* 7,8, *b* 8,3. *c* und *d* TRIS-Puffer (alt), p_H *c* 7,8, *d* 8,3. *e* Phosphatpuffer p_H 7,8 und 8,3. *Bedingungen:* Einmal gewaschene Chloroplasten (C_1) in 0,2% NaCl aufgenommen und auf 1 mg Chlorophyll/ml eingestellt. Manometrische Messung in der Warburg-Apparatur der Fa. Braun/Melsungen (VL). Gas: N_2. Temperatur: 15° C. Pro Gefäß: 0,5 mg Chlorophyll (Chloroplastenmaterial). Folgende Substanzen in µMol: Phosphat- oder TRIS-Puffer (Fa. Boehringer u. Soehne/Mannheim) 100; $MgCl_2$ 10; Ferricyanid (Seitenarm) 40. Im Zentraleinsatz: 0,2 ml 20% KOH. Gesamtvolumen der Flüssigkeit: 3,00 ml. Nach Begasung wurde gekippt und nach Ausgleich belichtet

Fig. 2. Einfluß verschiedener TRIS-Konzentrationen auf die Hill-Reaktion. Bedingungen wie in Fig. 1. Verwendung von frischem TRIS-Puffer. *a* 50, *b* 100, *c* 200, *d* 300 µMol

Konzentrationen gehemmt wird. Weiterhin wurde aus dem gleichen Laboratorium berichtet[4)], daß TRIS-behandelte Spinatchloroplasten die Reduktion von Trichlorphenolindophenol sowie die Phosphorylierung mit FMN, besonders unter aeroben Bedingungen, hemmen. Dieser Effekt wurde von STERN[5)] dahingehend gedeutet, daß die Cofaktoren des Elektronentransportes in TRIS aufoxydiert werden.

In eigenen Untersuchungen konnte beobachtet werden, daß „gealterter" TRIS-Puffer die Hill-Reaktion mit Ferricyanid in isolierten Chloroplasten von Spinat hemmt. Dieser Effekt tritt am deutlichsten hervor, wenn der Puffer 24 Std oder länger bei entsprechendem p_H aufbewahrt oder aus einer Vorratslösung (0,4 mol) verdünnt wird. Als Vergleich dienten Borat- und Phosphatpuffer. Da die Werte für beide Vergleichspuffer nahezu übereinstimmen, wird im folgenden auf Phosphatpuffer bezogen. Fig. 1 zeigt einen derartigen Versuch, in dem Phosphatpuffer mit frisch angesetztem und 24 Std altem TRIS-Puffer bei p_H 7,8 und p_H 8,3 verglichen wurde. Das Ergebnis zeigt, daß frisch angesetzter TRIS-Puffer bei p_H 7,8 keinen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit hat. Dagegen wird ein Absinken bei Verwendung von gealtertem TRIS-Puffer beobachtet. Die Hemmung ist bei p_H 8,3 größer als bei p_H 7,8. Für Phosphatpuffer spielt diese Alterung keine Rolle. Im weiteren konnte gezeigt werden, daß mit beiden Puffersystemen ein Optimum bei p_H 7,8 gemessen wird. Während jedoch dieses Maximum für Phosphatpuffer bis p_H 8,3 bestehenbleibt, findet man mit frischem TRIS-Puffer in diesem Bereich ein Absinken.

Neben der spezifischen Wirkung spielt noch die verwendete Pufferkonzentration eine Rolle. Mit zunehmender Konzentration an TRIS sinkt die O_2-Entwicklung stark ab, wie aus Fig. 2 hervorgeht. Das Abbiegen der Kurve bei 50 µMol TRIS/Gefäß beruht auf einen p_H-Abfall, da die geringe TRIS-Menge nicht mehr ausreicht, die bei der Reaktion entstehenden H-Ionen zu neutralisieren. Ähnliche Werte werden für 100 µMol gefunden, während eine weitere Steigerung auf 200 und 300 µMol zu einer sukzessiven Hemmung führt.

Als Ursache für die Hemmwirkung muß in erster Linie eine chemische Zersetzung von Trihydroxyaminomethan in Betracht gezogen werden. Wahrscheinlich wird Formaldehyd freigesetzt, das sekundär auf das Elektronentransportsystem des Chloroplasten wirkt. Die Zersetzung wäre nach den dargestellten Befunden um so größer, je alkalischer das Milieu ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für finanzielle Zuwendungen, Fräulein M. MAIKOWSKI für technisbe Unterstützung gedankt.

Botanisches Institut der Tierärztlichen Hochschule, Hannover

GÜNTER JACOBI

Eingegangen am 24. Mai 1961

[1)] CLENDENNING, K.A., u. P.R. GORHAM: Canad. I. Res., Sect. C **28**, 78 (1950). — [2)] HOLT, A.S., u. C.S. FRENCH: Arch. Biochem. **9**, 25 (1946). — [3)] KROGMANN, D.W., u. B. VENNESLAND: J. biol. Chem. **234**, 2205 (1959). — [4)] NAKAMOTO, T., D.W. KROGMANN u. B. VENNESLAND: J. biol. Chem. **234**, 2783 (1959). — [5)] STERN, B.: Feder. Proc. **19**, 328 (1960). — [6)] WARBURG, O., u. W. LÜTTGENS: Naturwissenschaften **32**, 161, 301 (1944). — [7)] WARBURG, O., G. KRIPPAHL, H.S. GEWITZ u. W. VÖLKER: Z. Naturforsch. **14b**, 712 (1959). — [8)] WESSELS, J.S.C.: Diss. Leyden (1954).

Über die Hemmung einzelner Blattanlagen an Caryphyllaceen-Sämlingen durch Phenylborsäure

In früheren Veröffentlichungen[1)],[2)] konnten wir zeigen, daß Phenylborsäure (PhB) in wäßriger Lösung rechtzeitig angewandt gerade in Anlegung begriffene Blattanlagen total zu hemmen vermag, ohne Schädigung des Vegetationspunktes und der bereits angelegten Primordien. In beiden bisher näher untersuchten Fällen [PhB-induzierte Monocotylie bei *Eranthis hiemalis*-Keimen[1)] und Reduktion der Petalenzahl bei Cucurbitaceen-Blüten[2)],[3)]] war festzustellen, daß die einzelnen Glieder eines Blattwirtels das zeitlich eng begrenzte PhB-sensible Anlegungsstadium *nacheinander* durchlaufen. Bezüglich des Kotyledonarwirtels ist dies besonders bemerkenswert.

Da wir vermuteten, daß das Gleiche auch für Laubblattwirtel gilt, haben wir Versuche mit angekeimten Samen dekussiert beblätterter Dikotylen-Arten angestellt. Eine Beeinflussung der (im Gegensatz zu *Eranthis*) am Embryo bereits ausdifferenzierten Cotyledonen war hier natürlich nicht mehr möglich, aber es war, in Analogie zu den Verhältnissen bei *Eranthis*, zu erwarten, daß sich bei einem richtig gewählten Zeitpunkt der PhB-Applikation nur das eine Glied des gerade in Anlegung befindlichen Laubblattwirtels in der PhB-sensiblen Phase befinden würde.

Während die untersuchten Vertreter der Labiaten, Plantaginaceen, Rubiaceen und Compositen unter den angewandten Bedingungen keine Reaktion zeigten, verhielten sich zahlreiche Caryophyllaceen- und einige *Euphorbia*-Arten wie erwartet.

Im Hinblick auf leichte Beschaffbarkeit, gute Keimfähigkeit und ausreichende Größe des Embryos wurden *Agrostemma githago* und *Vaccaria pyramidata* für die weiteren Versuche ausgewählt. Je 50 gut ausgereifte Samen wurden in Petri-Schalen auf Filterpapier in 10 ml Aqua dest. angekeimt und

Fig. 1. *Vaccaria pyramidata*. Keimpflanze nach PhB-Behandlung der eben auskeimenden Samen (Co = Cotyledonen; → = Ort des total entwicklungsgehemmten Blattes)

dann in Schalen mit 10 ml einer $2 \cdot 10^{-3}$ m PhB-Lösung übertragen. Die Ankeim- sowie die Behandlungszeiten variierten wir von 1 bis 48 Std. Danach kamen die Keime in Blumentöpfe mit Aussaaterde, wo sie sich nach etwa 10 Tagen zu Pflänzchen mit 2 bis 3 ausgebildeten Blattwirteln entwickel-

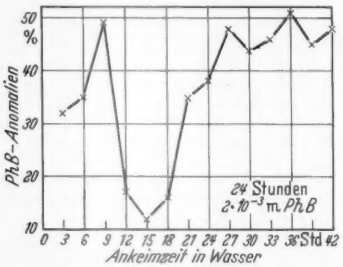


Fig. 2. *Agrostemma githago*. Anteil der PhB-Anomalien im 2. Blattwirtel (Ordinate) nach variierenden Ankeimzeiten und 24 Std Behandlungszeit (je 100 Samen)

ten. Diese wurden auf Blattausfälle und Stellungsanomalien hin untersucht.

Da bei *A. githago* der erste auf die Cotyledonen folgende Wirtel bereits am Embryo als Plumula angelegt ist, treten die typischen PhB-Anomalien stets erst am zweiten Laubblattwirtel auf, und zwar nach optimalen Ankeimzeiten (Fig. 2) bei etwa der Hälfte der behandelten Sämlinge. Man findet alle Übergänge von schwacher über starke Reduktion des einen Blattes bis zu dessen völligem Fehlen.

Die Sämlinge von *V. pyramidata* verhielten sich ganz entsprechend, nur war hier, im Zusammenhang mit dem Fehlen einer embryonalen Plumula, nach PhB-Beeinflussung der eben auskeimenden Samen bereits der erste epicotyle Wirtel eingliedrig ausgebildet (Fig. 1). Im Gegensatz zu *Agrostemma* treten bei *Vaccaria* neben den typischen Blattreduktionen und Ausfällen auch noch andere Mißbildungen auf, deren Zustandekommen wir zur Zeit noch klären. Auch ist der Prozentsatz an PhB-Anomalien insgesamt wesentlich höher als bei *Agrostemma*. Ein der PhB-induzierten Acotylie bei *Eranthis* vergleichbares gänzliches Fehlen beider Blätter des ersten Wirtels wurde, wenn auch selten, ebenfalls registriert (blattlose Knoten).

Von Interesse ist, wie die Blattstellung der folgenden Wirtel auf den Wegfall eines Blattes reagiert. Während bei *A. githago* Gliedzahl und Stellung der folgenden Wirtel im allgemeinen nicht beeinflußt werden, fanden wir bei *V. pyramidata* alle Möglichkeiten verwirklicht von völlig fehlender Beeinträchtigung (Fig. 1) bis zu vorübergehend disticher Folge einer ganzen Reihe von Blattorganen.

Bezüglich der für den Effekt optimalen Ankeim- und Behandlungszeiten ist zu berücksichtigen, daß nach den Untersuchungen von Borriss u. Mitarb.[4]) *Agrostemma*-Keime eine Nachreife durchmachen. Hieraus wird erklärlich, daß wir je nach der Jahreszeit der Versuchsanstellung verschiedene Ergebnisse hatten.

Die Daten für den in Fig. 2 wiedergegebenen *Agrostemma*-Versuch sind: Samen-Ernte August 1960; Versuchsanstellung April 1961; Ankeimzeiten von 3 bis 42 Std; Behandlungszeit in 10 ml einer $2 \cdot 10^{-3}$ m PhB-Lösung 24 Std; Temperatur 20° C.

Bei diesem wie bei allen anderen Versuchen mit variierenden Ankeimzeiten waren zwei Gipfel der maximalen PhB-Empfindlichkeit zu erkennen. Der erste lag bei voll nachgereiften Samen ziemlich genau bei 9 Std und der zweite zwischen 27 und 42 Std Ankeimzeit in Wasser. Der Gedanke liegt nahe, daß sich nach der kürzeren Ankeimzeit das erste und nach der längeren das zweite Blatt des betroffenen Wirtels in der PhB-sensiblen Anlegungsphase befunden hat. Ob diese Vermutung richtig ist, wird zur Zeit noch geprüft.

Das zeitliche Nacheinander in der Anlegung der Blätter eines Wirtels ist speziell für die Caryophyllaceen bereits von älteren Morphologen behauptet, aber von Goebel[5]) bestritten worden [vgl. Troll[6])]. Wir sehen in dem Ergebnis unserer Untersuchungen eine experimentelle Bestätigung der Konzeption der „Caryophyllaceen-Dekussation" als einer nur scheinbaren Wirtelstellung [„binding whorls" nach Schoute[7])].

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die wirksame Unterstützung unserer Untersuchungen.

Botanisches Institut der Universität, Mainz

Barbara Haccius und Dietrich Massfeller

Eingegangen am 19. Mai 1961

[1]) Haccius, B.: Naturwissenschaften **46**, 153 (1959); Planta **54**, 482 (1960). — [2]) Haccius, B., u. D. Massfeller: Naturwissenschaften **46**, 585 (1959); Planta **56**, 174 (1961). — [3]) Leh, H.-O.: Naturwissenschaften **48**, 138 (1961). — [4]) Borriss, H., u. M. Arndt: Flora [Jena] **143**, 493 (1956). — [5]) Goebel, K.: Organographie der Pflanzen. I. Jena 1913. — [6]) Troll, W.: Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen. I/1. Berlin 1937. — [7]) Schoute, J.C.: Ber. dtsch. bot. Ges. **50**, 229 (1932).

Über den Nukleinsäuregehalt gibberellinsäurebehandelter Tomatenpflanzen

Die Frage, inwieweit Gibberellinsäure (GA) die Zellstreckung oder die Zellteilung beeinflußt, ist noch nicht völlig geklärt. Nach einigen Autoren[1]),[2]) scheint der Haupteffekt in der Zellstreckung zu bestehen. Nach anderen Berichten[3]),[4]) dürfte aber vor allem die Zellteilung durch Gibberellinsäure beeinflußt werden. Mit einer Steigerung der Zellteilung sollte aber auch eine Erhöhung des Nukleinsäurespiegels GA-behandelter Pflanzen festzustellen sein. Demgegenüber wurde jedoch gefunden[5]), daß *Streptocarpus Wendlandii* nach GA-Behandlung eine Senkung des Gesamt-N-Spiegels zeigt, der Protein- sowie RNS- und DNS-Gehalt aber kaum beeinflußt wird. Es schien uns daher interessant, eine RNS- und DNS-Bestimmung an GA-behandelten Tomatenpflanzen durchzuführen.

Die Versuche wurden an 27 Tagen alten Tomatenpflanzen (*Lycopersicon esculentum*, Sorte: „Bonner Beste") durchgeführt, wobei die Hälfte der verwendeten Pflanzen 4 Tage vor der Ernte mit einer 10^{-1}%igen Lösung von Gibberellinsäure besprüht wurden. In vier Aufarbeitungsserien wurden insgesamt 110 Tomatenpflanzen auf ihren Nukleinsäuregehalt untersucht. Das Pflanzenfrischgewicht der gibberellinsäurebehandelten Pflanzen war durchschnittlich um 45 bis 48% höher als das der unbehandelten Pflanzen. Die in 60%igem Alkohol und 1,5 m heißer NaCl-Lösung unlöslichen hochpolymeren Stoffe (unter anderem Proteine und Zellulose) machten bei GA-behandelten 2,7% und bei unbehandelten Pflanzen 3,1% des Pflanzenfrischgewichtes aus. Die Nukleinsäuren wurden durch Salzextraktion und anschließende Alkohol-

fällung gereinigt und die RNS von der DNS durch Hydrolyse der RNS mit 0,5 m KOH getrennt.

Das Verhältnis Minimum:Maximum der UV-Spektren betrug bei den Ribonukleotiden 3,4, das der Desoxyverbindungen 1,8. Die P-Bestimmungen wurden nach ALLEN[6]) durchgeführt.

In der Tabelle sind die Nukleinsäure-Mittelwerte unbehandelter und GA-behandelter Pflanzen angegeben.

Tabelle. *RNS- und DNS-Mittelwerte in mg pro g Pflanzenfrischgewicht*

Pflanzen	RNS	DNS
unbehandelt A. . .	0,90	0,23
behandelt B . . .	0,74	0,29
Verhältnis A/B . . .	1,21	0,79

Die Unterschiede in der DNS- bzw. RNS-Synthese GA-behandelter Pflanzen werden besonders deutlich bei dem Vergleich der RNS/DNS-Verhältnisse. Bei unbehandelten Pflanzen beträgt dieses 3,9, bei GA-behandelten dagegen 2,6.

Wählt man als Bezugsgröße nicht das Pflanzenfrischgewicht sondern die Trockenrückstände (Protein, Zellulose u. a.), so ergeben die RNS-Werte ein Verhältnis $\frac{\text{unbehandelte}}{\text{GA-behandelte}} = 1{,}04$, die DNS-Werte dagegen ein solches von 0,72.

Man sieht also, daß bei der Verwendung des Gewichtes der hochmolekularen Trockensubstanz als Bezugsgröße die RNS-Synthese etwa parallel zu diesen Stoffen verläuft, dagegen die DNS-Synthese bei GA-behandelten Pflanzen stimuliert wurde.

Es scheint somit wahrscheinlich, daß das RNS/DNS-Verhältnis durch GA-Behandlung gestört werden kann, daß aber möglicherweise doch das RNS/Protein-Verhältnis gewahrt bleibt.

Institut für Biologie und Landwirtschaft des Reaktorzentrums, Seibersdorf
HANS ALTMANN

Biologische Forschungsabteilung der Österreichischen Stickstoffwerke A.G., Linz
OSWALD KIERMAYER

Eingegangen am 18. Mai 1961

[1]) KATO, J.: Bot. Gaz. **117**, 16 (1955). — [2]) STOWE, B.B., u. T. YAMAKI: Amer. Rev. Plant Phys. **8**, 181 (1957). — [3]) LANG, A.: Naturwissenschaften **43**, 257 (1956). — [4]) GREULACH, V.A., u. J.G. HAESLOOP: Amer. J. Bot. **45**, 566 (1958). — [5]) HESS, D.: Naturwissenschaften **46**, 408 (1959). — [6]) COULOMBE, L. J., u. R. PAQUIN: Canad. J. Bot. **37**, 897 (1959). — [7]) ALLEN, R.L.: Biochemic. J. **34**, 858 (1940).

Mutationen mit embryonaler Manifestation bei *Arabidopsis thaliana*

Nach Behandlung von Samen der Crucifere *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. mit verschiedenen Mutagenen (Röntgenstrahlen, Chemikalien) entstanden in großer Zahl 1. zygotische Letalfaktoren, die zum Absterben der Homozygoten vor der Keimung führen, und 2 andere mendelnde Faktoren, die homozygot einen Chlorophylldefekt der Kotyledonen bedingen. Beide Gruppen von Mutanten zeichnen sich dadurch aus, daß die unreifen Samen im Gegensatz zum Normaltyp nicht ergrünen. Bei der ersten Gruppe (embryonale Letalität) beginnen die Samen im Verlaufe des Reifeprozesses zu schrumpfen, und die Testa färbt sich vorzeitig braun. Die so entstandenen, nicht keimfähigen Samen sind als Kümmerkörner klar zu erkennen. Bei der zweiten Gruppe werden meist normal aussehende braune Samen gebildet, die keimfähig sind. Allerdings weisen manche *albina*-Formen eine embryonale Subvitalität auf, die in den Nachkommenschaften von Heterozygoten zu einem Rezessivendefizit führt[1]).

Das Auftreten dieser Mutanten ist am günstigsten kurz vor Beginn der „Gelbreife"[2]) festzustellen. Die Schoten, die in der Regel 30 bis 60 Samen enthalten, werden mit einer feinen Pinzette geöffnet und unter dem Präpariermikroskop untersucht. An heterozygoten Pflanzen findet man in ihnen normale und Mutanten-Samen im 3:1-Verhältnis. Neu aufgetretene Mutationen sind also schon in den Schoten der X_1-Pflanzen zu erkennen. Es wird versucht, auf dieser Grundlage eine Bestimmungsmethode für Mutationsraten zu entwickeln.

Institut für Kulturpflanzenforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Gatersleben (Krs. Aschersleben)
A. MÜLLER

Eingegangen am 19. Juni 1961

[1]) RÖBBELEN, G.: Z. Vererb.-Lehre **88**, 189 (1957). — [2]) MÜLLER, A.: Kulturpflanze **9**, 364 (1961).

Absorption of Glucose and Fructose in the Gut of *Oxycarenus hyalinipennis* (Costa) (Heteroptera; Lygaeidae)

Study of the capacity of *Oxycarenus hyalinipennis* (Costa) to absorb glucose and fructose has been undertaken to understand the physiological adaptations of the insect to its host plants. For this purpose adult insects, starved for 48 hours and desiccated at 30° C under 0 to 5% R.H., were offered cotton wool soaked in 10% solution of glucose or of fructose dyed with a little bromophenol blue. After allowing the insects to ingest the solution for 5 minutes they were given access to water alone. At different time-intervals after feeding the insects were dissected one by one and the three regions of the ventriculus and the hindgut were separated from one another according to the method adopted by SAXENA[1]). For each time-interval gut-contents from three individuals were pooled together and subjected to paper partition chromatography. Presence or absence of each sugar in different parts of the gut would be revealed on the chromatogram by brownish spots the intensity of which would vary according to their quantity. Position of the indicator in the gut was ascertained by its blue colour.

The observations indicate that the dye, present in the ingested solution, collects in the first ventriculus from where it reaches the second ventriculus in about 15 minutes, the third ventriculus in 20 minutes and the hindgut in 30 minutes. The dye is not absorbed and its evacuation begins after 90 minutes of ingestion. The ingested glucose, which also collects in the first ventriculus, suffers a reduction in its quantity by the time it is detected in the second ventriculus about 30 minutes after the meal. From this time-interval onwards the sugar remains present in both the first two ventriculi but its concentration gradually declines till, after 105 minutes, it completely disappears from the gut without reaching the third ventriculus or the hindgut.

Fructose, when fed alone to the insect, also undergoes a similar fate but it completely disappears from the gut earlier than glucose i.e. in about 75 minutes. Throughout their stay in the gut neither fructose nor glucose is transformed into any other sugar.

Incubation of a known quantity of glucose or fructose with the extracts of the midgut does not result in any loss in the quantity of the sugar. All these observations suggest that disappearance of the ingested glucose and fructose from the gut is due to their absorption.

Further information on the relative rates of absorption of the two monosaccharides was obtained by feeding the insects on a solution containing both glucose and fructose in 10% concentration. At different time-intervals after the meal the quantity of each hexose in the midgut was determined after separating the sugars by chromatography, treating their eluates with anthrone[2]) reagent and measuring the optical density of the solutions on a photoelectric colorimeter. In the control samples of the mixture, applied directly to the chromatogram, the ratio Fr/Gl always remained 1:1. On the other hand, contents of the first ventriculus, collected immediately after feeding, reveal a fall in the proportion of fructose in comparison to glucose (Table). With advance in time-lapse, not only the absolute amount of each hexose decreases but the ratio Fr/Gl also declines. About 150 minutes after ingestion

Table. *Relative rates of absorption of fructose and glucose in the gut of Oxycarenus hyalinipennis (Costa) fed on a mixture (1:1 w/w) of the two sugars*

1. Time*)	0—5	30	90	105	120	135	150 min
2. Glucose	61·2	39·7	21·3	18·4	16·1	14·9	13·8 µg
3. Fructose	42·5	27·1	13·5	11·2	8·2	7·0	2·1 µg
4. Fr/Gl	0·69	0·62	0·63	0·60	0·50	0·47	0·15

*) 1. Time-lapse after the meal (in minutes). — 2.; 3. Actual quantity of the sugars present in the midgut (in micrograms). — 4. Ratio Fructose/Glucose.

of the mixture absorption of fructose is almost complete whereas glucose still persists in a minute quantity in the midgut.

These observations indicate that the rate of absorption of fructose in the gut of *Oxycarenus* is greater than that of glucose and in this respect it resembles *Dysdercus*[1]). Both these bugs are also similar to each other in that glucose and fructose get absorbed without undergoing any transformation in the gut; in this respect they differ from *Periplaneta*[3]) and mammals[4]) where the ingested fructose is partly transformed into glucose before absorption.

The fact that the proportion of fructose to glucose begins to fall even when the two sugars are present only in the first ventriculus suggests that this region of the midgut is the site of absorption for the sugars. However, sometimes the hexoses have been traced upto the second ventriculus before their disappearance from the gut. This indicates that some absorption can occur in the second ventriculus as well. In this respect *Oxycarenus* differs from *Dysdercus*[1]) in which the fructose gets absorbed in the second ventriculus and glucose in the third ventriculus.

The writers gratefully acknowledge financial assistance from I.C.A.R. New Delhi, and are also thankful to Prof. B.R. Seshachar for encouragement and providing facilities for the work.

Department of Zoology, University of Delhi, Delhi, India

Premlata Bhatnagar and K.N. Saxena

Eingegangen am 26. Mai 1961

[1]) Saxena, K.N.: Physiol. Zool. **31**, 129 (1958). — [2]) Morris, D.L.: Science **107**, 254 (1948). — [3]) Pillai, M.K.K., and K.N. Saxena: Physiol. Zool **32**, 293 (1959). — [4]) Wilson, T.H., and T.N. Vincent: J. Biol. Chem. **216**, 851 (1955).

Die Wirkung von β-Mercaptoäthanol auf junge Embryonen der weißen Ratte

Mazia[1]) hat bemerkt, daß bei der Furchung des Seeigelembryos das Mercaptoäthanol (M.) hemmend einwirkt auf die Bildung der Spindel. Brachet[2]) hat auf Grund von Versuchen an verschiedenartigen biologischen Objekten feststellen können, daß M. ausnahmslos jede Morphogenese bei der embryonalen Entwicklung von Amphibien wie bei der Regeneration von Acetabularia inhibiert. So konnte die bedeutende Rolle der sulfhydrilhaltigen Proteine bei Teilung und Morphogenese aufgewiesen werden[3]).

Den Verfassern erschien es von Interesse, die Einwirkung dieser wenig toxischen Verbindung auf junge Säugetierembryos zu erforschen. Auf Grund der Annahme, daß das M. hemmend einwirken muß auf die zahlreichen während der Implantation in der Uterusschleimhaut stattfindenden Mitosen, wurde einigen Serien von Versuchstieren gleichzeitig Progesteron eingegeben mit der Absicht, die Schleimhautwucherung zu fördern, ohne dabei auf den Embryo selbst einzuwirken.

Trächtige weiße Rattenweibchen, deren Gewicht etwa 200 g betrug, erhielten einige Tage lang intraperitoneal zweimal täglich je 0,007 g M. Die Tiere wurden am 12. bzw. 15. Tage der Trächtigkeit getötet.

Tabelle 1. *Verhältnisse nach Einspritzung von M*

Weibchen	Tage der Trächtigkeit		♀ ohne Embr.	Embryonen	
	M.	Tötung am		gef.	Gewicht
13	9—11	12. Tag	7	37	2,4 ± 0,3 mg
13	9—11	15. Tag	8	32	90,4 ± 2,3 mg
10	9—14	15. Tag	9	8	—

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse. Augenfällig ist die große Zahl von Weibchen ohne Embryonen, deren Zahl mit der Dauer der Einspritzungen von M. ansteigt. Bezeichnend ist dabei der Unterschied im Gewicht zwischen Embryonen von Versuchs- und Kontrolltieren (5,3 ± 0,2 mg; $P < 0{,}01$).

Wird aber gleichzeitig Progesteron eingegeben in Dosen von 2,5 oder 5 mg täglich, so sinkt die Zahl der Weibchen ohne Embryonen stark, während das Gewicht der gefundenen Embryonen das gleiche bleibt wie in den Versuchsserien ohne Progesteron (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Verhältnisse nach Einspritzen von M. und Pg.*

Weibchen	Tage der Trächtigkeit			♀ ohne Embr.	Embryonen	
	M.	Pg.	Tötung am		gef.	Gewicht
23	9—11	6—11	12. Tag	1	155	2,8 ± 0,2 mg
11	9—11	6—11	15. Tag	1	75	90,8 ± 1,5 mg
15	9—14	6—14	15. Tag	3	82	85,2 ± 1,8 mg
13	9—14	9—14	15. Tag	3	64	87,3 ± 2,3 mg

Die Embryonen der Kontrolltiere zeigen am 12. (6,9 ± 0,13 mg) sowohl wie am 15. Tage (119 ± 2,0 mg) der Trächtigkeit ein bedeutend größeres Gewicht (in beiden Fällen $P < 0{,}01$)

Die histologischen Präparate zeigen deutlich, daß von Einspritzungen von M. — ohne Progesteron — ganz besonders die Uterusschleimhaut betroffen ist: Mitosen sind nicht zu bemerken, das Cytoplasma läßt sich schwer färben, sogar nekrotische Zellgruppen sind aufweisbar.

Die gefundenen Embryonen erwiesen sich in der Mehrzahl der Fälle als völlig normal mit ganz seltenen Fällen von Mißbildung: unter 460 untersuchten Fällen wurden nur zwei Mißbildungen gefunden.

So scheint der Schluß berechtigt zu sein, daß die primäre Wirkung von M. die Uterusschleimhaut betrifft, mit der Resorption von Embryonen als Sekundärerscheinung, deren Eintreten durch Progesteron verhindert werden kann. Erhalten sich die Embryonen trotz M., so bleiben sie fast immer normal, nur rückständig in der Entwicklung und leichter an Gewicht als bei Kontrolltieren, beides ohne Rücksicht darauf, ob Progesteron eingegeben wird oder nicht. So darf wohl weiter angenommen werden, daß das M. teilweise auch unmittelbar auf die Embryonen einwirkt und einer Verzögerung der Entwicklung zur Folge hat.

Biologisches Institut der medizinischen Fakultät, Zagreb (Jugoslavien)

M. Müller und N. Škreb

Eingegangen am 19. Mai 1961

[1]) Mazia, D.: Exp. Cell Res. **14**, 486 (1958). — [2]) Brachet, J.: Nature [London] **181**, 1736 (1958). — Brachet, J., u. M. Delange-Cornil: Develop. Biol. **1**, 79 (1959). — [3]) Rapkine, L., u. J. Brachet: Bull. Soc. Chim. Biol. **33**, 427 (1951).

Über die Netzbeschwerung bei der Kreuzspinne Aranea diadema L.

Eine Beschwerung des Spinnennetzes durch kleine, am Ankerfaden hängende Steinchen war gelegentlich schon bei Aranea sexpunctata[1]) und A. diadema[2]) beobachtet worden. Ein weiterer derartiger Fall kam nun im September 1960 an der Sportschule des Saarlandes zur Beobachtung. Dort hing nämlich an der Mauer an einem 2,70 m langen Ankerfaden ein Steinchen, welches, im Winde hin und herpendelnd, offenbar der elastischen Spannung des hier senkrecht von der Dachkante (*DK*) herabhängenden Kreuzspinnennetzes diente. Die darüber sitzende Spinne akzeptierte nach der Entfernung des ersten Steinchens nun aber auch künstlich angebrachte Gewichte, die seitlich des Netzes an einem Nähfaden zur Erde herabhingen (Fig. 1 und 2, Nf) bzw. dem Boden auflagen. So wurde der Spinne im Laufe von drei aufeinanderfolgenden Versuchen zunächst eines, dann zwei und schließlich eine Vielzahl kleiner Gewichte zur Netzbeschwerung angeboten. Schon beim ersten Versuch holte die Spinne den Nähfaden (*Nf*) näher unter das Netz heran und ließ an ihm ihren Ankerfaden (*Af*) bis zu dem 1 g schweren Steinchen herab, welches sie mit zarten Spinnenfäden umgab (Fig. 2, *Spf*). Dabei wurde der Stein etwas höher gehoben. Lag dieser zuvor dem Boden auf, so schwebte er am anderen Tag schon über der Erde. Im folgenden wurde in die Mitte des Fadens ein zweites Gewicht in Form einer 1 g schweren Perle eingeknüpft. So oft nun das freihängende Steinchen am Ende des Fadens mit einer Sperrholzplatte unterlegt und somit seine Schwerewirkung aufgehoben wurde, so oft zog die Spinne dieses mittels einer Fadenverkürzung wieder über die Unterlage empor und stellte damit die Netzbeschwerung wieder her. Dabei wurde der Abschnitt des Nähfadens vom Netz bis zur Perle in ein Feld von Gerüstfäden eingespannt (Fig. 1, *Gf*) und immer stärker in den Netzrahmen miteinbezogen, während das Fadenstück von der Perle bis zum Stein kaum verkürzt wurde. In dieser Weise hob die Spinne binnen einer Woche ein Gewicht von 2 g (Stein + Perle) nahezu 1 m in die Höhe.

Bei dem letzten Versuch wurde in den untersten, dem Boden anliegenden Fadenabschnitt 60 Perlen mit einem Einzelgewicht

von 0,034 g nacheinander eingeknüpft. Es blieb somit der Spinne überlassen, wieviel Perlen (*Pe*) sie zum Zwecke der Netzbeschwerung in die Höhe ziehen wollte. Sie wählte ein Gewicht von 20 Perlen (rund 0,7 g), die sie nach und nach emporzog und mit ihrem Ankerfaden überspann (Fig. 3). Wie in allen übrigen Fällen kam auch hier die Abkürzung des Nähfadens durch eine Verkürzung des an ihm hinablaufenden

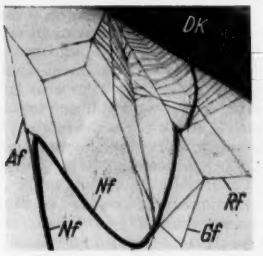


Fig. 1

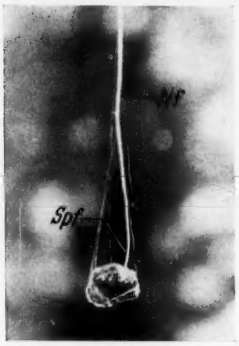


Fig. 2

Fig. 3

Fig. 1. Ein Ausschnitt aus dem Spinnennetz mit dem an der Dachkante befestigten (hier schwarzen) Nähfaden. Negativunikat, vergr. etwa $^4/_{10}$

Fig. 2. Der am Nähfaden hängende umsponnene Stein. Natürliche Größe

Fig. 3. Der untere Fadenabschnitt mit den Perlen (*Pe*), deren oberste am 26. 9. noch dem Boden auflag, am 27. und 28. 9. aber bis zu den betreffenden Markierungsstrichen am Meßbrett in die Höhe gezogen wurde

Ankerfadens zustande, wodurch ersterer in zahlreiche Schlingen und Schleifen gelegt (Fig. 3, *Schl.*) und dergestalt zusammengezogen wurde.

Zoologisches Institut der Universität, Saarbrücken

M. E. Lemppenau

Eingegangen am 30. Mai 1961

[1]) Crompton, J.: Die Spinne. Berlin: L. Blanvalet 1953. — [2]) Wiehle, H.: Z. Morph. u. Ökol. Tiere **8**, 468 (1927).

Canthaxanthin in Vogelfedern

Aus den durch Carotinoide rot gefärbten Federn sind bis jetzt als Inhaltsstoffe das Astaxanthin (3,3′-Dioxy-4,4′-diketo-β-carotin) und das Rhodoxanthin (3,3′-Diketo-β-carotin) erkannt worden. Auch gelang es, diese beiden roten Carotinoide als kristallisierte Farbstoffe aus Federn zu gewinnen[1]). Während das Astaxanthin mit Sicherheit nur bei einigen Singvögeln (Oscines) nachgewiesen ist, findet sich das Rhodoxanthin bei Flaumfußtauben (Ptilinopodinae) und einem Schmuckvogel (Cotingidae).

Darüber hinaus trifft man in den roten Federn anderer Vogelarten Carotinoide an, die durch ein breites, einbandiges Absorptionsband ausgezeichnet sind und die sich vom Astaxanthin vor allem dadurch unterscheiden, daß sie nach alkalischer Behandlung keine sauren Eigenschaften zeigen, d. h., sie bleiben auch bei alkalischer Reaktion im Benzin, und sie sind nach ihrer Adsorption an Aluminiumoxyd wieder quantitativ eluierbar[2]).

Es lag nahe, diese Carotinoide mit Canthaxanthin zu vergleichen, einem roten, sauerstoffhaltigen Carotinoid, das von Haxo[3]) aus dem Pfifferling *Cantharellus cinnabarinus* isoliert und dessen Struktur von Petracek and Zechmeister[4]) als die eines 4,4′-Diketo-β-carotins ermittelt worden ist. Dabei ergab sich, daß die roten Lipochrome von *Cardinalis cardinalis* (Kardinal), *Calochaetes coccineus* (Tangare), *Pharomachrus mocino* (Trogon) und *Pyrocephalus rubineus* in allen ihren Eigenschaften mit Canthaxanthin völlig übereinstimmen: Spektrum, bei visueller Beobachtung mit dem Gittermeßspektroskop Streifenmitte des breiten Absorptionsbandes bei 480 mμ im Benzin (nach Haxo hat die Absorptionskurve bei 466 mμ im Hexan den Gipfel); bei der Verteilung des Farbstoffes zwischen Benzin und 90%igem bzw. 95%igem Methanol nimmt ersteres nur wenig, letzteres mehr als die Hälfte des Pigments auf. Auch verhält es sich einheitlich im Mischchromatogramm mit Canthaxanthin (synthetisch Hoffmann-La Roche) an $CaCO_3$ und Al_2O_3, Benzin, Benzol. Somit kann an einer Identität dieser Federfarbstoffe mit Canthaxanthin kein Zweifel bestehen, wenn auch die endgültige Identifizierung der Pigmente ihrer Isolierung in kristallisiertem Zustand vorbehalten bleiben muß. Aus den intensiv roten Federn des Roten Sichlers *(Guara rubra)* gelang jetzt die Isolierung von Canthaxanthin in kristallisierter Form, das damit erstmals aus dem Tierkörper in Substanz gefaßt ist.

Bemerkenswerterweise besteht auch die orangerote Gefiederfarbe des Kapuzenzeisigs (*Spinus cucullatus* ♂) und die des „Roten Farbenkanarienvogels", der aus der Kreuzung *Spinus cucullatus* ♂ × *Serinus canaria* ♀ und deren Weiterzucht mit *Serinus canaria* ♀ hervorgegangen ist, zu einem erheblichen Teil ebenfalls aus Canthaxanthin.

In neuester Zeit stellte Fox[5]) fest, daß auch der rote Federfarbstoff des Flamingos *(Phoenicopterus ruber)* mit Canthaxanthin alle Eigenschaften gemeinsam hat.

Es kann heute als gesichert gelten, daß die Vögel ihr Asta-, Rhodo- und Canthaxanthin nicht aus der Nahrung beziehen, vielmehr diese *roten* Carotinoide durch Umbau und Oxydation *gelber* Nahrungscarotinoide (Lutein, Zeaxanthin, β-Carotin) auf fermentativem Weg entstehen lassen. Die Strukturformeln der drei roten Carotinoide lassen die Stellen der oxydativen Veränderungen genau erkennen.

Eine ausführliche Darstellung dieser Befunde wird im *Journal für Ornithologie* erscheinen.

Zoologisches Institut der Justus-Liebig-Universität, Gießen

Otto Völker

Eingegangen am 25. Mai 1961

[1]) Völker, O.: Naturwissenschaften **41**, 405 (1954); — Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **290**, 223 (1952); **292**, 75 (1953); — J. Ornithol **94**, 263 (1953); **96**, 50 (1955). — [2]) Völker, O.: Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe **18**, 177 (1960). — J. Ornithol. **99**, 210 (1958). — [3]) Haxo, F.: Bot. Gaz. **112**, 228 (1950/51). — [4]) Petracek, F. J., u. L. Zechmeister: Arch. Biochem. Biophys. **61**, 137 (1956). — [5]) Fox, D. L.: Comparative Biochemistry of photoreactive systems, p. 11. New York 1960.

Desoxyribonuclease-Wirkung in der intakten Zelle

Die Verknüpfung von hohen Desoxyribonuclease-Aktivitäten (DNase) mit Wachstums- und Zellteilungsvorgängen konnten wir früher damit zeigen, daß DNase-Zugabe zu sich teilenden Zellen eine Beschleunigung der Zellvermehrung zur Folge hat [siehe z. B.[1])]. Sehr gut läßt sich diese Wirkung an jungen Furchungsstadien von Rana temporaria studieren[2]).

Die augenfälligste Wirkung der von uns verwendeten DNase I im Reagenzglas ist die Spaltung der Esterbindung zwischen der Phosphorsäure und C_3' der Desoxyribose in der Desoxyribonucleinsäure (DNS). Da man versucht ist, auch die Wirkung an der intakten Zelle auf diese Beobachtung zurückzuführen, prüften wir den Einfluß von DNS und ihren Bausteinen auf den biologischen DNase-Effekt. Man könnte besonders bei dotterreichen Eiern, die größere Mengen feulgenpositiven Materials im Cytoplasma enthalten, eine Spaltung dieses Materials durch die DNase annehmen, wodurch in erhöhtem Maße Ausgangssubstanz für die zur Zellteilung notwendige DNS-Synthese zur Verfügung gestellt würde. Dadurch wäre eine Beschleunigung der Zellvermehrung zu erreichen. Diese Möglichkeit entfällt allerdings bei der von uns auch untersuchten Hefe sowie bei Euglena[3]), wo wir den gleichen Effekt der erhöhten Zellvermehrung fanden. Auch die hier mitzuteilenden Befunde sprechen entschieden gegen eine solche Erklärung.

Zugabe von Gemischen aller vier am häufigsten in der DNS vorkommenden Nucleotide in Konzentrationen von 10^{-6} bis

10^{-4} mol (das entspricht etwa 0,4 bis $40 \cdot 10^{-6}$ g/ml, d.h. Konzentrationen, mit denen man in der Eizelle von Rana temporaria rechnen muß) verändert die Teilungszeit der einzelnen Furchungsstadien nicht. Auch die durch DNase-Zusatz verkürzte Teilungszeit bleibt unbeeinträchtigt. Verwendet man an Stelle der Mononucleotide hochpolymere, aus Forellensperma hergestellte DNS, so beeinflußt sie allein die Entwicklungsgeschwindigkeit nicht. Geben wir aber dazu noch DNase, so wird die Entwicklung verlangsamt (Tabelle, B.).

In der Reihe A ist kein, in den Reihen B und C jedoch sind hochsignifikante, überzufällige Unterschiede zu sichern. [Für den t-Test[5]) ist der Unterschied bei B und C mit $p < 0{,}001$ sicherbar.]

Experimentelle Bedingungen: Befruchtete Eier von Rana temporaria wurden mit zwei Pinzetten ihrer Gallerthülle beraubt und zu je dreien in Vertiefungen in einem Wachsblock in 0,3 ml chlorfreiem Leitungswasser bzw. Wasser mit den angegebenen Zusätzen bei etwa 20° C gehalten. Unter dem

Tabelle. *Einfluß von DNS und DNase auf die Entwicklungsgeschwindigkeit von Amphibieneiern*

	Versuchsbedingungen	N	Zellzahl*)	Zeitdauer t (min)	Sicherung**) exp.	a	b
A.	Wasser	22	4—128	214,5 ± 6,2	1,85	6,20	
	DNS 10^{-4} g/ml	24		213,5 ± 5,8			
B.	DNase I $5 \cdot 10^{-6}$ g/ml	15	2—64	218,7 ± 3,5	7,72	—	6,35
	DNase I $5 \cdot 10^{-6}$ g/ml + DNS $4 \cdot 10^{-4}$ g/ml	15		226,3 ± 6,2			
C.	DNase I 10^{-8} g/ml	14	4—64	185,7 ± 4,3	7,92	—	6,09
	DNase I 10^{-8} g/ml + DNS 10^{-4} g/ml	14		194,3 ± 5,8			

*) Beobachtete Stadien-Zellzahl. — **) Statistische Sicherung[4]): exp. = experimenteller x-Wert; a: erforderlicher Wert für $p = 0{,}05$, b: für $p = 0{,}01$.

Auflichtmikroskop wurden sie alle 5 min einzeln durchmustert und die Zeiten der vollendeten Zellteilungen notiert. Die absoluten Teilungszeiten der Laichballen sind verschieden, daher können nur die zwei Reihen eines Ansatzes in ihrer absoluten Größe verglichen werden.

Es wurde kristallisierte DNase I aus Rinderpankreas (Worthington) verwendet.

Man könnte nun meinen, daß hier der entwicklungshemmende Effekt der DNase durch ihr Abfangen infolge DNS-Zugabe bewirkt würde. Der Versuch (Tabelle, C) deutet jedoch noch andere Zusammenhänge an. DNase-Konzentrationen von 10^{-8} g/ml bleiben allein ohne meßbare Wirkung auf das Froschei, nach Zusatz der — allein ebenfalls unwirksamen — DNS-Konzentration von 10^{-4} g/ml resultiert eine Verlangsamung der Teilungsgeschwindigkeit.

Es läßt sich aus den Ergebnissen ersehen, daß DNS-Spaltprodukte die zellteilungsbeschleunigende Wirkung der DNase nicht unterstützen, so daß die eingangs erwähnte Erklärung der Wirkung durch die zugegebene DNase und damit Bereitstellung zusätzlichen Ausgangsmaterials zur Neusynthese von DNS kaum haltbar ist.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre Unterstützung.

Institut für vegetative Physiologie der Universität, Frankfurt a.M.

G. Kiefer und R. K. Zahn

Eingegangen am 26. Mai 1961

[1]) Kiefer, G., R. Kiefer, G. Zahn u. R. K. Zahn: Biochem. Z. **334**, 49 (1961). — [2]) Zahn, R. K., u. G. Kiefer: Exp. Cell Res. **19**, 460 (1960). — [3]) Zahn, R. K.: Nature **184**, 1324 (1959). — [4]) Van der Waerden, B. L., u. E. Nievergelt: Tafeln zum Vergleich zweier Stichproben mittels X-Test und Zeichentest, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — [5]) Koller, S.: Biochemisches Taschenbuch, hrsg. v. H. M. Rauen. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Radiation Effects on the Uptake of Radioactive Iron (Fe^{59}) by Rat Bone Marrow Megakaryocytes in Vivo

In our previous communication[1]) we reported Fe^{59} incorporation by rat bone marrow megakaryocytes *in vivo*. In order to find out whether radiation has any effect on Fe^{59} uptake in megakaryocytes the following experiment was done.

Three albino rats of average 120 g bodyweight were given a whole body irradiation of 500 r from a 250 kVp self rectified unit (I.G.E. Maximar 250), filtered through 0·5 mm Cu and 1·0 mm Al (H.V.L. 1·5 mm Cu). The target object distance was 50 cm. Irradiation was conducted in a specially designed chamber in which fairly accurate dose measurement was possible with reproducible irradiation condition. On the seventh day following irradiation one animal died. On the eighth day, each of the remaining two was given an intraperitoneal injection of 4·5 μC of Fe^{59} as ferric chloride in citrate buffer (specific activity more than 1·5 μC/μg). On the tenth day the animals were anaesthetized with nembutal sodium and femoral marrow was fixed in Bouin's fluid overnight. 5 μ sections were made and autoradiographs were prepared using the stripping film technique[2]) with Kodak AR 10 stripping plates.

Slides were air dried quickly and exposed inside a refrigerator (2 to 5° C). Times of exposure, developing and fixation of the slides were exactly the same as described previously[1]). Autoradiographs were stained with methyl green-pyronin after photographic processing and studied under oil immersion.

There was a fall in the incidence of megakaryocytes post irradiation as had been recorded[3]). It was observed that radiation caused a marked increase in Fe^{59} incorporation

Table. Fe^{59} *incorporation in the non-radiated and radiated megakaryocytes.* Back ground counts per non-radiated and radiated cells were 5·8 and 11·3 respectively

	Non-radiated	Radiated
Mean grains per cell with S.D.	21·7 ± 7·4	75·5 ± 16·0
Mean grains per nucleus with S.D. . . .	7·9 ± 4·1	28·3 ± 7·8
Mean grains per cytoplasm with S.D. . .	13·8 ± 4·4	47·2 ± 14·4

when compared with the non-radiated ones. A total number of 130 cells were counted and grains over the nuclei and cytoplasm were scored. The differences in Fe^{59} incorporation between the non-radiated and radiated megakaryocytes on the nuclei and cytoplasm respectively are represented in the Table. For the non-radiated cells, the data are from the previous experiments[1]). In both these cases the rats had nearly the same bodyweight. They were injected with the same concentration of Fe^{59}, and sacrificed in a similar way and at the same interval after injection.

In order to evaluate the nature of statistical differences in Fe^{59} incorporation between the non-radiated and radiated megakaryocytes t-test was performed and it was found to be highly significant. It appears from the present experiment that radiation induced Fe^{59} incorporation in the megakaryocytes of rat bone marrow *in vivo* is a radiosensitive process. The nature of the iron incorporated is under investigation.

We are extremely grateful to Dr. Subodh Mitra, Director of this Centre for his interest in the work, to Dr. P. De, Dr. T. Ghosh and Mr. K. L. Bhattacherya, for valuable discussions, to Mr. R. Chatterjee for his kind co-operation.

Departments of Cell Research and Biophysics, Chittaranjan National Cancer Research Centre, Calcutta-26 (Direktor: Dr. Subodh Mitra)

S. K. Brahma, A. Bose and S. Bose

Eingegangen am 26. April 1961

[1]) Brahma, S. K., A. Bose and S. Bose: In Press. — [2]) Doniach, I., and S. R. Pelc: Brit. J. Radiol. **23**, 184 (1950). — [3]) Simpson, S. M.: Int. J. Rad. Biol. **1**, 181 (1959).

Autoradiographische Untersuchungen mit H^3-Cytidin über die RNS-Synthese im Nukleolus und Kern und die Migration der RNS zum Cytoplasma während des Funktionsformwechsels im exokrinen Pankreas

In neuerer Zeit mehren sich die Anzeichen dafür, daß die RNS einer Zelle hauptsächlich im Kern und Nukleolus gebildet und dann zum Cytoplasma transportiert wird, wo sie die cytoplasmatische Eiweiß-Synthese induziert. Diese Vorgänge wurden am exokrinen Pankreasgewebe der weißen Maus autoradiographisch untersucht. Wie frühere morphologische Beobachtung gezeigt hatten[1]), nimmt der zunächst zentral

gelegene Nukleolus in der ersten Stunde nach einer Pilocarpininjektion im Anschluß an die rasch einsetzende Abgabe der Sekretgranula geringfügig an Volumen zu, während der Kern als ganzes eine mäßige Volumenabnahme erfährt („Kontraktionsphase"). Dann gewinnt der Nukleolus Kontakt mit der Kernmembran, und schließlich wird die Nukleolarsubstanz an das Cytoplasma abgegeben („Extrusionsphase", 3 bis 5 Std nach Pilocarpin). In der Folgezeit nimmt das Volumen des randständigen Nukleolus mehr und mehr ab, während das Kernvolumen, schon vor der Extrusion beginnend, kontinuierlich anwächst bis zu einem Maximum bei 7 Std („Dekondensationsphase"). Zu diesem Zeitpunkt ist nur noch ein Nukleolusrest sichtbar, oder der Nukleolus ist gänzlich verschwunden. Hierauf bilden sich kleine, allmählich größer werdende feulgenpositive Chromatinverdichtungen, in deren Innern später zu einem zentral gelegenen Nukleolus vereinigte Nukleolarsubstanzen auftreten (17 bis 24 Std). Dabei nimmt das Kernvolumen vorübergehend (bei 12 Std) auf einen unternormalen Wert ab und erreicht bei 17 bis 24 Std wieder das Normalvolumen („Kondensations- und Ruhephase").

Wir injizierten 15 g schweren, männlichen weißen Mäusen 0,2 cm^3 einer 1‰igen Atropinlösung s.c., gleichzeitig erfolgte Nahrungsentzug, 12 Std später Pilocarpininjektion s.c. (0,15 cm^3 einer 1%igen Lösung). Nach Ablauf unterschiedlicher Zeitintervalle wurde H^3-Cytidin (0,177 mC, i.p.) injiziert und jeweils 20 min nach Aktivitätsinjektion getötet, und zwar bei 0,5; 1; 3; 5; 7; 12; 17 und 24 Std nach Pilocarpingabe. Fixation des Pankreas in neutralem Formalin und Bouin-Gemisch, Paraffineinbettung, Färbung nach H.-E., VAN DUIJN und FEULGEN. Die intrazelluläre H^3-Cytidin-Inkorporation wurde dann autoradiographisch mit Hilfe von Silberkornzählungen über den Zellstrukturen untersucht (stripping-film AR 10, Kodak).

Die früheren morphologischen Vorgänge[1]) konnten voll bestätigt werden. Unter den gewählten Versuchsbedingungen kann die Silberkornzahl auf den Autoradiogrammen über Nukleolus und Kern als ein Maß für die jeweilige RNS-Syntheserate genommen werden. In Übereinstimmung mit anderen Autoren[2]),[3]) findet sich eine große Silberkorndichte über dem Nukleolus und eine viel kleinere über dem Karyoplasma. Das Cytoplasma ist fast frei von Silberkörnern. Auffällig ist dabei, daß der Nukleolus während des Funktionsformwechsels — auch der randständige Nukleolusrest nach erfolgter Extrusion — bis zu seinem Verschwinden bei 7 Std RNS (oder RNS ähnliche Stoffe) synthetisiert. Während der Volumenabnahme des Nukleolus nimmt aber die Silberkorndichte (Ag-Körner/μ^2), d.h. die Inkorporation pro Volumeneinheit weiterhin zu. Der bei 12 Std neu erscheinende Nukleolus hingegen zeigt zunächst eine unternormale und bei 17 bis 24 Std wieder normale Silberkorndichte.

Bei Zeitintervallen von 20 min zwischen H^3-Cytidininjektion und Tötung ist auf den Autoradiogrammen bereits der Beginn einer Extrusion von H^3-markierten Substanzen aus randständigen Nukleoli ins Cytoplasma sichtbar. Um diesen Prozeß und die Migration der RNS im Cytoplasma genau zu erfassen, wurde eine weitere Versuchsserie durchgeführt, bei der die Tötungszeit nach H^3-Cytidingabe variiert wurde (Tötung 50 min; 1,5; 2; 3; 4,5; 6; 9 und 12 Std nach 0,49 mC H^3-Cytidin i.p., jeweils 3 Std nach Pilocarpin). Dabei zeigen sich insbesondere 50 min nach H^3-Cytidingabe auf den Autoradiogrammen mehr oder weniger leere, randständige Nukleoli mit einer in das Cytoplasma hineinreichenden Wolke von Silberkörnern. Der H^3-Aktivitätsgehalt dieser Wolke ist genau gleich demjenigen anderer nicht extruierender Nukleoli. Bei nahe randständigen Nukleoli findet sich eine H^3-Markierung der „chromosomalen Leitbahn"[1]) bei entsprechender Abnahme der Silberkornzahl über dem zugehörigen Nukleolus. Bei späteren Tötungszeiten (1,5 bis 2 Std) ist die cytoplasmatische Silberkorn-Wolke bereits weitgehend aufgelöst, was für eine relativ schnelle Diffusion der extruierten Nukleolarsubstanz spricht. Der ganze Extrusionsprozeß dürfte innerhalb etwa einer Stunde ablaufen. Die Häufigkeit der Extrusionen ist an jeder Stelle der Kernoberfläche völlig gleich.

Der zeitliche Verlauf der RNS-Aktivität in verschiedenen Bereichen des Cytoplasmas (basal, lateral des Kernes, apical) ist durchweg gleichgerichtet und hat ein Maximum bei 7 Std zum Zeitpunkt der größten Kernschwellung. Auch das spricht dafür, daß sich die vom Kern einschließlich des Nukleolus abgegebene RNS (oder ähnlichen Substanzen) im Cytoplasma sehr schnell verbreitet. Auf die relativ große im Karyoplasma synthetisierte RNS-Menge und ihre Abgabe ins Cytoplasma kann hier nur hingewiesen werden.

Eine ausführliche Darstellung der Untersuchungen wird in der Zeitschrift für Zellforschung erfolgen.

Institut für Medizinische Isotopenforschung der Universität, Köln
Pathologisches Institut der Universität Würzburg

E. STÖCKER, W. MAURER und H.-W. ALTMANN

Eingegangen am 27. April 1961

[1]) ALTMANN, H.-W.: Z. Krebsforsch. **58**, 632 (1952). — [2]) FITZGERALD, P. J., u. K. VINIJCHAIKUL: Lab. Invest. **8**, 319 (1959). — [3]) SCHULTZE, B., W. OEHLERT u. W. MAURER: Unveröffentlicht.

Besprechungen

Handbuch der Physik. Encyclopedia of Physics. Hrsg. von S. FLÜGGE. Bd. XI. Teil 1: Akustik I. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961. Gr.-8⁰. VI, 443 S. u. 183 Fig. Gzl. DM 128.—.

Der vorliegende Band XI/1 des von S. FLÜGGE herausgegebenen „Handbuches der Physik" ist der erste Teilband der Akustik. Man könnte ihn im wesentlichen mit dem Stichwort „Akustische Relaxationen" überschreiben, denen etwa drei Viertel des Umfanges gewidmet sind. Das Thema ist sehr aktuell, war doch beispielsweise die diesjährige Bunsen-Tagung mit ihrem Hauptthema diesen Prozessen gewidmet.

Das erste und gleichzeitig an Seitenzahl stärkste Kapitel ist „Theoretische Akustik", die ausdrücklich auf lineare Vorgänge beschränkt wird. Es ist von PHILIP M. MORSE und K. UNO INGARD, beide Professoren der bekanntesten Technischen Hochschule in USA, Massachusetts Institute of Technology in Cambridge/USA, geschrieben und enthält in mathematisch sehr strenger Form fast ohne alle den Text unterstützenden Figuren die wesentlichen theoretischen Probleme der Akustik, angefangen von den allgemeinen Grundlagen, den Differentialgleichungen, den Randbedingungen und den Integralgleichungen, dann übergehend zu Einzelproblemen, wie Reflexion an ebenen Grenzflächen, Schallübertragung durch Rohrleitungen, Schallabstrahlung und Schallstreuung bis zu den zur Zeit sehr wichtigen Fragen der Schallausbreitung in inhomogenen und bewegten Medien. Ein umfangreicher Abschnitt über gekoppelte akustische Systeme beschließt das ausgezeichnete Kapitel, das in englisch geschrieben ist.

Eingangs wurde erwähnt, daß der vorliegende Band fast ausschließlich den akustischen Relaxationsprozessen vorbehalten ist. Dementsprechend werden im zweiten Beitrag aus der Feder von HANS O. KNESER, Stuttgart, die Schallabsorption und die Schalldispersion in Gasen behandelt. Hierfür ist Prof. KNESER wie kein anderer geeignet, hat er doch in seiner bekannten grundlegenden Arbeit zusammen mit VERN O. KNUDSEN in Los Angeles schon vor etwa 30 Jahren die theoretische Deutung der bekannten Hallraumabsorption durch die molekulare Absorption von O_2 gegeben und seitdem viele Untersuchungen auf diesem Gebiet ausgeführt. Der Inhalt des Beitrages ist: Theorie der Schallabsorption und -dispersion auf Grund der Mechanik der Kontinua, kinetische Theorie der molekularen Absorption und Dispersion, experimentelle Methoden und Ergebnisse sowie eine kurze Theorie der Relaxationszeiten.

Als drittes Kapitel folgt: Schallabsorption und Schalldispersion in wäßrigen Elektrolytlösungen, verfaßt von KONRAD TAMM, früher Göttingen, jetzt Heidelberg, der im Laufe des letzten Jahrzehnts zahlreiche Untersuchungen zu diesem Thema besonders mit zweiwertigen Salzen in einem extrem großen Frequenzbereich durchgeführt und zum Teil gemeinsam mit M. EIGEN gedeutet hat. Diese Prozesse sind weitgehend durch Reaktionen in einer stufenweisen Dissoziation gekennzeichnet. Überschriften der einzelnen Abschnitte sind: Einfache Reaktionen, Reaktionsfolgen, Geschwindigkeitskonstanten bestimmter Teilreaktionen. Es folgen die Meßverfahren und die Meßergebnisse. Den Schluß bildet eine ausführliche Deutung der verschiedenen Ursachen für die

Absorption. Auch spezielle Ionenreaktionen werden besprochen.

Auf die Elektrolyte folgt ein Kapitel über die Schallabsorption und die Schalldispersion in Flüssigkeiten und Flüssigkeitsgemischen. Der Verfasser ist DANIELE SETTE, Messina und Rom. Dieses Kapitel ist in englisch geschrieben. Von SETTE stammen aus den letzten Jahren viele Untersuchungen zum Thema dieses Kapitels. Er behandelt: Visko-thermische Theorie und klassische Absorption, Relaxation in Flüssigkeiten, Viskoelastizität, experimentelle Methoden und experimentelle Ergebnisse in Flüssigkeiten und in binären Flüssigkeitsgemischen. In einem Schlußabschnitt wird die Abhängigkeit der Schallgeschwindigkeit von der chemischen Natur und von der Struktur der Flüssigkeit besprochen.

Den Schluß des Buches bildet eine ausgezeichnete Darstellung der Schallabsorption und der Schalldispersion in Hochpolymeren, gegeben von WARREN P. MASON, einem bekannten Mitarbeiter der Bell Telephone Laboratories, Murray Hill, N. J./USA. Der Text ist englisch. Auch MASON hat im letzten Jahrzehnt auf diesem Gebiet viele wertvolle Beiträge experimenteller und theoretischer Art geliefert. Auch hier seien für den Leser zur Orientierung kurz die Überschriften der einzelnen Abschnitte genannt: Phänomenologische Methoden zur Charakterisierung der Relaxationsprozesse; Spezielle Verfahren zur Bestimmung der Eigenschaften von Hochpolymeren; Hochpolymere mit langen Ketten in Lösungen, Eigenschaften von hochpolymeren Flüssigkeiten; Messungen von Gummi bei kleinen Beanspruchungen; Elastische Eigenschaften von festen Hochpolymeren.

Alle vorstehend erwähnten Arten von akustischen Relaxationsprozessen sind in dem vorliegenden Band von hervorragenden Sachkennern erschöpfend und ihrem heutigen Stand entsprechend behandelt. Es besteht kein Zweifel, daß dieser Band Akustik I des Handbuches zu den besten Darstellungen gehört, die wir zur Zeit über Relaxationsprozesse besitzen. Gemeinsam mit der Einleitung über Theoretische Akustik wird das Buch ein gesuchter und gern benutzter Teil des gesamten Handbuches werden.

Abschließend sei noch gesagt, daß den einzelnen Kapiteln ausführliche Literaturzitate beigegeben sind und daß das Buch, wie beim Springer-Verlag üblich, eine ausgezeichnete Ausstattung hat.

E. MEYER (Göttingen)

Gruhle, Wolfgang: Elektronische Hilfsmittel des Physikers. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960. VIII, 200 S. u. 167 Abb. Gr.-8°. DM 29.60.

In dem vorliegenden Buch hat sich der Verfasser das Ziel gesetzt, dem Experimental-Physiker eine Zusammenstellung gebräuchlicher elektronischer Methoden für die Daten- und Signalverarbeitung mit grundsätzlichen Schaltungs- und Berechnungsunterlagen in die Hand zu geben. Hierbei wird auf das breite Gebiet der Hochfrequenztechnik bewußt verzichtet; ebenso sind in den Schaltungsbeispielen keine Transistorausführungen enthalten. Entsprechend ihrer Bedeutung für die Signal- und Datenverarbeitung steht die Impulstechnik mehr im Vordergrund des Buches.

Das einleitende Kapitel enthält einen nützlichen Abschnitt über die Planung, wobei grundsätzliche Fragen der Signalverarbeitung, der Bausteinwahl und des Nachbaues erörtert werden. Ferner werden in einem zweiten Abschnitt die Eigenschaften der Bauelemente wie Röhren, Halbleiter, Dioden, Transistoren (kurz), Kabel und R-L-C-Kombinationen behandelt. Im zweiten Kapitel „Signalerzeugung" folgen in drei Abschnitten Definitionen der Signale (kurz), Wandler (kurz) und Signalgeneratoren. Letztere sind aufgeteilt nach Schaltern in allgemeiner Fassung und Röhrengeneratoren. Hierzu wird anschließend die Triggerung behandelt, an die sich die Strahlungsdetektoren als besonders herausgegriffene Signalgeneratoren anschließen. Das folgende Kapitel „Signalveränderung" beginnt mit dem Abschnitt „Amplitudenänderung", unterteilt in lineare Änderung und nichtlineare Änderung. Ein größerer Raum ist bei der linearen Änderung naturgemäß der Verstärkung gemidmet. Die beiden nächsten Abschnitte enthalten die „zeitliche Änderung" mit den Unterabschnitten „Verzögerung", „Impulsdehnung", „Zeittransformation", „Kabelformer", „amplitudenunabhängiger Signal-Zeitpunkt" und „die Formänderung von Signalen" mit den Unterabschnitten „Triggerstufen", „Differenzierstufen", „Integrierstufen", „Zeit-Amplitudentransformation". Es folgt nun ein Kapitel über „Signalkombination", aufgeschlüsselt in „Amplitudenkombination", „Kombination von Signalzeichen" und einen Abschnitt über „Inspektionskreise für Amplitude und Zeit". Ein Kapitel wird der „Signalregistrierung" gewidmet mit einer Übersicht und einer Dreiteilung der Abschnitte in „analoge", „digitale" und „Vielkanalregistrierung". Den Abschluß bildet ein Kapitel über „Strom- und Spannungsquellen", wobei der Stabilisierung besondere Aufmerksamkeit gewidmet ist.

In einem Anhang sind Hinweise zusammengefaßt für „Aufbau", „Prüfung", „Meßgeräte" und geeignete Form der „Publikation" hinsichtlich der verwendeten elektronischen Apparatur.

Von dem umfangreichen Literaturverzeichnis mit 358 Zitaten (davon 45 Lehrbücher und Nachschlagwerke) wird häufig Gebrauch gemacht, so daß besonders die Verfolgung vieler Anregungen erleichtert wird, die dort gegeben werden, wo Raummangel größere Ausführlichkeit verbietet.

Es ist zu begrüßen, daß in diesem Buch neben einem guten Überblick auch meist ausreichende Berechnungsgrundlagen und Diskussionen des jeweiligen Anwendungsbereiches und der Leistungsgrenzen gegeben werden. Die klare Gliederung des Stoffes in Verbindung mit einem reichhaltigen Stichwortverzeichnis ermöglichen ein schnelles Auffinden der interessierenden Stellen.

Obwohl der Verfasser teilweise mehr auf kernphysikalische Anwendungen eingeht, dürfte dieses Buch ebenso für Experimentalphysiker, die auf anderen Gebieten arbeiten, ein außerordentlich nützlicher Ratgeber bei dem Aufbau elektronischer Apparaturen sein.

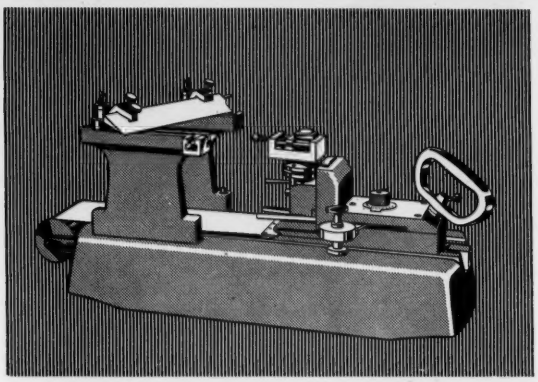
W. EISENMENGER (Göttingen)

Biochemistry of the Developing Nervous System. Proc. of the First Intern. Neurochemical Symposion Oxford, 13.—17. Juli 1954. Hrsg. HEINRICH WAELSCH. New York: Academic Press 1955. XVII, 537 S. u. 86 Abb. Gr.-8°. Gzl. $ 11.50.

Das Symposion wurde am Magdalen College in Oxford gehalten und ist bezeichnend für die Spezialisierung unserer Zeit: nicht etwa die Biochemie des Nervensystems, sondern nur die der Entwicklung wurde abgehandelt von 70 Teilnehmern in 44 Vorträgen. Diese Vorträge sind verhältnismäßig kurz, aber meist erschöpfend wiedergegeben: im Durchschnitt 11 Seiten, mit je einem Literaturverzeichnis ohne Arbeitstitel (was zu bedauern ist), aber mit dem Wortlaut der Diskussion (was zu begrüßen ist). Die Berichte wurden zu 6 Gruppen geschickt zusammengestellt, aber mit nur wenigen Hinweisen von einem Referat auf das andere. 1. *Morphologische und funktionelle Ontogenie des zentralen Nervensystems:* Frühentwicklung, Durchblutung, experimentelle Neuroembryologie, biochemische Spezifikation des Neurons, funktionelle Entwicklung des NS, Spinalreflexe, elektroencephalographische Untersuchungen an dem sich entwickelnden Gehirn. — 2. *Chemische Zusammensetzung des sich entwickelnden NS:* Bestandteile des Gehirns während der Reifung, Porphyrine, Eisen, Polysaccharide, Untersuchungen mit UV-Licht und infraroter Spectrophotometrie, Stoffwechsel der Nucleinsäuren. — 3. *Dynamische Biochemie des sich entwickelnden NS:* Turnover der Bestandteile, Permeabilität der Blut-Gehirn-Grenze für Glutaminsäure, Veränderungen der Blutzirkulation und des Sauerstoff-Verbrauches, Inkorporation von P^{32} in Adenosin-Triphosphat und Phosphorkreatinin, Intraplasmatischer Stoffwechsel, Stoffwechselveränderungen bei elektrischen Impulsen, Lipoide, Synthese der Neurophospholipoide. — 4. *Enzymatische Differenzierung mit Bezug auf die Funktion:* Enzymatische und funktionelle Muster, Einfluß des Alters auf den Gehalt an Cholinesterase im Gehirn und im NS., 5. *Chemie der Zellen:* Histochemie der Neuronen. — 6. *Genetische Faktoren:* Genetik und pathologische Chemie, biochemische Genetik in bezug auf Krankheiten, Phenylketonurie, Einfluß der Hormone, Hypothyreoidismus, Blutadrenalin und Intelligenz, Phosphorylierungsdefekte, Einfluß des Fluorocitrates, Prinzipien der Drogenprüfung, experimentelle Mißbildungen und ihre neurochemische Bedeutung, auch in der postnatalen Entwicklung. — Ein ausführliches Autoren- und Sachregister beschließen den sehr inhaltsreichen Band.

GOTTWALT CHRISTIAN HIRSCH (Göttingen)

Herausgeber und verantwortlicher Redakteur: Professor Dr. Ernst Lamla, Göttingen. — Verantwortlich für den Anzeigenteil: Günter Holtz, Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3. — Springer-Verlag OHG, Berlin-Göttingen-Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. — Printed in Germany



MIKROTOME

Grundschlittenmikrotom Typ 1300 Universalmikrotom
Großes Mikrotom nach Minot Typ 1212 für Serienschnitte
Großes Gefriermikrotom Typ 1310
Ultramikrotom nach Fernández Morán

Die Abbildung zeigt
das große Grundschlittenmikrotom Typ 1300

ERNST LEITZ GMBH WETZLAR

Leitz
WETZLAR

Handbuch der Pflanzenphysiologie
Encyclopedia of Plant Physiology
Herausgegeben von W. RUHLAND †
In Gemeinschaft mit
E. ASHBY, Belfast · J. BONNER, Pasadena · M. GEIGER-HUBER, Basel · W. O. JAMES, London · A. LANG, Pasadena · D. MÜLLER, Kopenhagen · M. G. STÅLFELT, Stockholm
In 18 Bänden

Im Herbst 1961 wird erscheinen:

Band 14

Wachstum und Wuchsstoffe
Growth and Growth Substances

Bearbeitet von B. ÅBERG, F. T. ADDICOTT, L. J. AUDUS, J. A. BENTLEY, R. BLOCH, J. BRACHET, H. BURSTRÖM, P. CHAMPAGNAT, R. CLELAND, A. S. CRAFTS, N. FRIES, A. W. GALSTON, S. A. GORDON, C. J. GORTER, F. G. GUSTAFSON, E. HEITZ, T. HEMBERG, W. S. HILLMAN, S. HOUSLEY, A. HOWARD, N. Å. JÖNSSON, A. LANG, P. LARSEN, A. C. LEOPOLD, R. A. LEWIN, J. VAN OVERBEEK, B. O. PHINNEY, P.-E. PILET, R. POHL, R. D. PRESTON, U. RUGE, G. SCHRAMM, H. SÖDING, J. STRAUB, J. H. TAYLOR, C. THIELKE, C. A. WEST, W. G. WHALEY, D. J. WORT, H. ZIEGLER

Redigiert von HANS BURSTRÖM, Lund/Schweden

Mit etwa 376 Abbildungen. Etwa 1420 Seiten Gr.-8⁰. 1961.

(16 Beiträge in deutscher, 35 Beiträge in englischer und 4 Beiträge in französischer Sprache)

Vorbestellpreis gültig bis zum Erscheinen Ganzleinen DM 284,—
Endgültiger Ladenpreis nach Erscheinen Ganzleinen DM 355,—

Bei Verpflichtung zur Abnahme des Gesamtwerkes gilt der Vorbestellpreis auch nach Erscheinen des Bandes weiter als Subskriptionspreis bis zum Abschluß des Werkes; jedoch ist jeder Band zum Ladenpreis einzeln käuflich

INHALTSÜBERSICHT

Einführung und Übersicht · General survey · Anatomische Grundlagen des Wachstums · Wachstum als Gesamtprozeß · Die einzelnen Wachstumsprozesse · Die chemische Regulierung des Wachstums: General survey. Metabolic factors limiting growth. Die Auxine · Other biogenous growth promoters. Biogenous inhibitors. Gibberellins and plant growth · Jeder Beitrag enthält ein Literaturverzeichnis · Namenverzeichnis — Author Index · Sachverzeichnis (Deutsch-Englisch) — Subject Index (English-German).

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

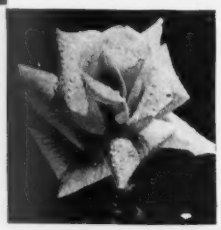
Objektive aus JENA

verdienen Ihr volles Vertrauen,
weil die modernen Fertigungsverfahren und Kontrollmethoden
im größten feinmechanisch-optischen Betrieb der Welt
für eine gleichmäßig hohe Serienqualität
Gewähr bieten.

Zusatzobjektive aus JENA

von f = 25 mm bis f = 1000 mm vervollständigen
Ihre hochwertige Spiegelreflexkamera
Pentacon, Praktica, Praktina
Praktisix, Exakta-Varex, Exa
für alle Aufgabengebiete,
für alle Gelegenheiten,
für alle Ansprüche

Fordern Sie bitte Prospekte und Bezugsquellennachweis
unter 54/25 - 1000 an.



JENOPTIK JENA GmbH

Diesem Heft liegt ein Prospekt bei vom Georg Thieme Verlag, Stuttgart.